



**Avito Hernâni dos
Santos Rebelo**

**Preparação de hidroxiapatite nanométrica com
características adequadas ao processamento
coloidal para aplicações biomédicas**



**Avito Hernâni dos
Santos Rebelo**

**Preparação de hidroxiapatite nanométrica com
características adequadas ao processamento
coloidal para aplicações biomédicas**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais, realizada sob a orientação científica do Doutor José Maria da Fonte Ferreira, Professor Associado com Agregação do Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro

o júri

presidente

Doutor Jorge Ribeiro Frade
Professor Catedrático da Universidade de Aveiro

Doutora Maria Helena Mendes Gil
Professora Catedrática da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Doutor José Maria da Fonte Ferreira
Professor Associado com Agregação da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Desejo agradecer a todos os que me ajudaram nos momentos mais críticos, em especial ao Professor Doutor José Maria, por ter abdicionado do seu tempo pessoal para me ajudar. Um especial obrigado à Ana (Nhau) por todo o auxílio na revisão e formatação de texto.

Desejo ainda agradecer à Alexandra (Xana) pelas horas infindáveis em questões relacionadas com as “nossas” apatites, Kannan, Ventura, Sunana e todos aqueles que de uma ou outra forma me auxiliaram sempre que lhes solicitei ajuda.

Ao Jorge por me ter encorajado com o mestrado.

A todos os técnicos do DECV por tão atenciosamente terem-me auxiliado sempre que necessitei da sua colaboração.

resumo

Neste trabalho foram sintetizados pós de hidroxiapatite nanométrica com características morfológicas e físico-químicas adequadas ao processamento coloidal, através de um processo químico de precipitação. Este processo tem por base a mistura de duas soluções distintas, uma fonte de cálcio e a outra a fonte de fósforo, que misturadas em proporções adequadas permitem a obtenção de diferentes produtos consoante os parâmetros de processamento adoptados.

Portanto, uma primeira parte do trabalho centrou-se no estudo dos efeitos dos parâmetros mais relevantes do processo de precipitação, nomeadamente:

- razão Ca/P;
- concentração das soluções iniciais;
- temperatura;
- tempo de reacção.

Os resultados deste estudo permitiram estabelecer as condições experimentais adequadas à obtenção de hidroxiapatite estequiométrica e padronizar procedimentos que possibilitam a obtenção de pós com características previamente especificadas. Os pós obtidos foram caracterizados através de análise química e mineralógica (constituição de fases cristalinas), e análises espectroscópicas, granulométrica, e morfológica. Verificou-se que a presença de aglomerados fortes era uma característica comum a todos os precipitados, pouco atractiva com vista ao uso dos pós no processamento por via coloidal de materiais biocerâmicos.

Com o intuito de ultrapassar estas limitações, procedeu-se a um estudo complementar com vista à obtenção de precipitados estabilizados *in situ* através da adição de um agente superficialmente activo. Com estes pós foi possível a preparação de suspensões com características adequadas às etapas subsequentes de processamento, permitindo assim ultrapassar as etapas de secagem e de calcinação dos precipitados. Deste modo, o processo de produção de suspensões coloidais de pós de fosfatos de cálcio tornou-se muito mais célere e com gastos energéticos muito reduzidos.

abstract

In this work, nanometric hydroxylapatite powders were synthesized with morphological and physicochemical characteristics suitable for colloidal processing, through a chemical process of precipitation. This process consists in preparing two distinct solutions, one is the calcium source and the other is the phosphorous source that when mixed in suitable proportions enable obtaining different products according to the processing parameters used. Therefore, the first part of this work focused on studying the effects of the most relevant experimental process variables on the characteristics of the final products, namely:

- Ca/P ratio;
- concentration of the initial solutions
- temperature;
- time of reaction.

The results of this study permitted to establish the set of experimental conditions that could lead to the formation of stoichiometric hydroxylapatite and to standardise the procedures enabling to obtain powder with characteristics previously specified. The features of the as obtained powders were characterised through different analysis (chemical, mineralogical (crystalline phase assemble), spectroscopic, particle size and morphological). It could be concluded that the presence of strong agglomerates was a common features to all the precipitated powders, limiting their attractiveness as raw material for colloidal processing of bioceramic materials.

In order to overcome the first stage limitations, a complementary study was undertaken aiming at obtaining precipitated powders *in situ* stabilized by adding a surface active agent to the precipitating media. This part of the study enabled colloidal suspensions with suitable rheological and processing characteristics to be obtained, avoiding the drying and calcinations steps. In this way, the process of obtaining colloidal suspensions of calcium phosphates became much faster with a simultaneous decreasing of energetic consume.

Aos meus pais e ao meu irmão por me terem dedicado tanto tempo ao longo da vida e por todo o seu carinho e a toda a minha família.

Índice

Índice de Figuras	ix
Índice de Tabelas.....	xi
Objectivos do trabalho.....	1
 1 Introdução.....	 3
1.1 Importância e desenvolvimento de biomateriais	3
1.1.1 Aplicações da hidroxiapatite como Biomaterial	6
1.2 Estrutura e propriedades da hidroxiapatite	9
1.2.1 Natureza química.....	9
1.2.2 Estrutura	11
1.2.3 Propriedades mecânicas	14
1.2.4 Características Espectrográficas.....	16
1.2.5 Não Estequiometria	18
1.2.6 Transporte de massa e propriedades eléctricas.....	19
1.2.7 Tomada de iões por troca iónica.....	23
1.2.8 Adsorção e Catálise	25
1.3 Métodos de síntese de pós	30
1.3.1 Métodos químicos por via seca – reacções no estado sólido	32
1.3.2 Métodos químicos por precipitação e hidrólise.....	33
1.3.3 Síntese de Monocristais.....	34
 2 Procedimento experimental.....	 35
2.1 Síntese de pós.....	36
2.1.1 Descrição do equipamento utilizado na síntese de HA.	36
2.1.2 Síntese de HA.....	39
2.1.3 Síntese de HA na presença de um agente superficialmente activo	42
2.2 Preparação de pós para caracterização.....	43
2.3 Caracterização dos pós.....	44
2.3.1 Identificação de fases e grupos funcionais	45
2.3.2 Caracterização Morfológica	46
2.3.3 Caracterização Reológica	47

3 Resultados e Discussão	49
3.1 Pós por calcinar	49
3.1.1 Difracção de Raio X.....	49
3.1.2 Espectros FTIR	50
3.2 Efeito da Calcinação/Tratamento Térmico.....	51
3.2.1 Difracção de raio X (DRX).....	51
3.2.2 Razão molar Ca/P = 1,67	53
3.2.3 Razão molar Ca/P = 1,68	54
3.2.4 Razões molares Ca/P = 1,69; 1,70 e 1,80.....	55
3.2.5 Espectro FTIR.....	58
3.2.6 Espectro Raman	59
3.2.7 Parâmetros estruturais	61
3.2.8 Tamanho de Cristalite	62
3.3 Microscopia Electrónica de Transmissão (TEM).....	64
3.4 Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM).....	66
3.5 Caracterização dos pós de HA precipitados na presença de um agente superficialmente activo	70
4 Conclusão.....	75
5 Trabalho futuro.....	77
6 Referências Bibliográficas	79

Índice de Figuras

Figura 1: Imagens AFM dos diversos estágios do processo de reparação	8
Figura 2: Elementos de simetria do grupo espacial $P6_3/m$ na célula unitária de hidroxiapatite.	11
Figura 3: União das colunas de Ca (1)-O através dos tetraedros de PO_4 na HA.....	12
Figura 4: Poliedro de coordenação dos iões de Ca(1) na HA.....	12
Figura 5: Esquematização da disposição dos iões Ca(2) na HA formando canais ao longo do eixo c.	13
Figura 6: Esquematização dos canais de Ca(1) e OH.....	14
Figura 7: Espectro de absorção de infravermelho de HA estequiométrica.	16
Figura 8: Esquema do mecanismo para o movimento de protões proposto por Maiti e Freund.	20
Figura 9: Características de trabalho de um sensor de humidade de HA.	22
Figura 10: Estrutura de um sensor híbrido HA-ZnO.....	22
Figura 11: Curva da variação da concentração de Cd^{2+} <i>versus</i> tempo.	24
Figura 12: Várias orientações de grupos carregados positivamente à superfície (enamel crystallite surface).	26
Figura 13: Esquema do mecanismo catalítico da HA na hidrólise do clorobenzeno.	27
Figura 14: Cromatogramas de uma mistura de lisoenzimas (a) e (b) e citocromo c (c) utilizando uma coluna de esferas de HA.....	28
Figura 15: Gráficos obtidos a partir da utilização da equação da razão para a reacção sólido-sólido por Shinriki-Kubo.	32
Figura 16: Fluxograma do procedimento experimental adoptado.....	35
Figura 17: Esquema do aparato experimental associado ao reactor.....	37
Figura 18: Fotografia do reactor e equipamento auxiliar utilizado no processo de síntese de HA.	38
Figura 20: Dispositivo de lavagem do pó precipitado.....	43
Figura 21: Forno de calcinação do pó.	44
Figura 22: Equipamento de DRX utilizado na identificação de fases.....	45
Figura 23: Padrões de DRX dos pós precipitados.	49

Figura 24: Espectros de FTIR para as composições seleccionadas (antes de calcinar).	50
Figura 25: Série de espectros de DRX para as amostras com Ca/P=1,67 realizadas a T=90°C e com uma frequência de agitação de 16,66 Hz (ou 1000 rpm).....	54
Figura 26: Série de espectros de DRX para as amostras com Ca/P=1,68 realizadas a T=90°C e com uma frequência de agitação de 16,66 Hz (ou 1000 rpm).....	55
Figura 27: Série de espectros de DRX para as amostras com Ca/P=1,69 realizadas a T=90°C e com uma frequência de agitação de 16,66 Hz (ou 1000 rpm).....	56
Figura 28: Série de espectros de DRX para as amostras com Ca/P=1,70 realizadas a T=90°C e com uma frequência de agitação de 16,66 Hz (ou 1000 rpm).....	57
Figura 29: Série de espectros de DRX para as amostras com Ca/P=1,80 realizadas a T=90°C e com uma frequência de agitação de 16,66 Hz (ou 1000 rpm).....	57
Figura 30: Espectros de FT-IR para as composições seleccionadas (após calcinação).	58
Figura 31: Espectros Ramman para as amostras A90, B90, C90, D90 e E90.....	59
Figura 32: Espectro Ramman após calcinação da amostra A90.	60
Figura 33: Micrografia de TEM da amostra A95.....	64
Figura 34: Micrografia de TEM da amostra D95.....	65
Figura 35: Micrografia de TEM da amostra E95.	65
Figura 36: Micrografias SEM para as amostras A90 e A95.	67
Figura 37: Micrografias SEM para as amostras B91 e B93.....	67
Figura 38: Micrografias SEM das amostras C90 e C95.....	68
Figura 39: Micrografias SEM para as amostras D90 e D95.	68
Figura 40: Micrografias SEM das amostras E90 e E95.	69
Figura 41: Padrões de difracção de Raio-X das amostras A, B e C.	70
Figura 42: Distribuições do tamanho de partículas das amostras A, B, C e D, após filtração.	71
Figura 43: Microgramas SEM das amostras A, B, C e D.	72
Figura 44: Curvas de desfloculação das amostras C e D, com diferentes tipos de lavagem, com água e com soluções de ASA.	73

Índice de Tabelas

Tabela 1: Minerais apatíticos mais abundantes que têm na sua composição cálcio e fósforo. ...	10
Tabela 2: Resumo comparativo das propriedades físicas do esmalte, osso e HA.	15
Tabela 3: Valores de A (força de adsorção) e N (número máximo de locais de adsorção por cada 1g de HA) de alguns adsorventes para vários pontos isoelétrico (PIE).....	27
Tabela 4: Métodos de síntese de pós de hidroxiapatite e sua morfologia.	31
Tabela 5: Nomenclatura atribuída a cada uma das amostras mediante as condições de síntese.....	41
Tabela 6: Nomenclatura das amostras e respectiva concentração em fósforo (P), percentagem em peso (wt.%) de ASA e tipo de lavagem.	42
Tabela 7: As fases detectadas para condições diferentes de reacção após calcinação a 900°C.....	53
Tabela 8: Parâmetros de rede calculados a partir da fase de HA após calcinação a 900°C.....	62
Tabela 9: Tamanho de cristalite calculado do plano 002 (<i>eixo-c</i>) e plano 300 (<i>eixo-a</i>) para as diferentes reacções e após a calcinação dos pós a 900°C.	63

Objectivos do trabalho

O objectivo principal deste trabalho de mestrado foi sintetizar pós de fosfato de cálcio, com características morfológicas e físico-químicas adequadas ao processamento coloidal, através de um processo químico de precipitação. Serão estudados os efeitos dos vários parâmetros envolvidos no processo de precipitação, nomeadamente a razão Ca/P, concentração das soluções iniciais, temperatura, tempo de reacção e tempo de maturação.

Será feita a avaliação do modo como os parâmetros referidos influenciam as características dos pós, nomeadamente químicas, físicas e morfológicas. Mediante os resultados alcançados, deverão ser padronizados os procedimentos que possibilitem a obtenção de pós com características previamente especificadas.

Sendo, o processamento coloidal de pós precipitados, por via química, um processo muito moroso, houve necessidade de pensar numa forma alternativa de chegar ao processamento coloidal, sem passar por um nº de etapas tão elevado. Deste modo, surgiu um outro objectivo que consistiu na tentativa de obtenção de uma suspensão com características adequadas às etapas subsequentes de processamento, imediatamente à saída do reactor.

1 Introdução

1.1 Importância e desenvolvimento de biomateriais

A utilização de determinados materiais enquanto constituintes de implantes cirúrgicos não é recente. Ravaglioli *et al.* mencionaram que a substituição de partes de tecido ósseo, com a intenção de reparar áreas expostas a lesões extensas (por exemplo, esmagamento de ossos por acidentes), foi referida desde a era pré-cristã. Os materiais usados na altura eram o bronze e o cobre, provavelmente em circunstâncias em que era necessário realizar a união de ossos fracturados. Nestes casos, as hipóteses de obter resultados positivos seriam boas, desde que o efeito tóxico dos iões de Cu^{2+} em circulação na corrente sanguínea no corpo fossem superados, uma vez a peça de cobre tivesse sido completamente dissolvida e a fractura fosse suturada [1].

Estas conquistas positivas, apesar de pouco numerosas, persuadiram positivamente os “profissionais de saúde da época” a prosseguirem a pesquisa de novos materiais para estas aplicações. Já no império Inca eram realizadas operações, algumas de natureza delicada, em que fragmentos de ossos eram removidos durante as mesmas e, posteriormente eram colocados na sua posição original.

Infelizmente, uma ciência na qual outros materiais além do Cobre e Bronze fossem considerados como materiais apropriados para implantes não foi desenvolvida até meados do Século XIX. As próteses utilizadas nesta altura eram, regra geral, apenas externas. Contudo, pela mesma altura, a ciência médica já tinha alcançado o progresso suficiente para antecipar sérias tentativas de reparar partes do corpo por meio de materiais estranhos ao organismo. Os cirurgiões ortopédicos foram estimulados a investigar implantes para desempenhar uma função de substituição, como alternativa válida aos materiais até então considerados como única opção.

Seguindo uma linha puramente lógica, em termos de compatibilidade, baseada na analogia entre a composição do marfim e do osso, em 1880, Gluck *et al.* aplicaram uma prótese de marfim, utilizando um cimento de ancoragem (*colophony-based cement*) [2,3].

Quatro anos mais tarde, Pean *et al.* tentaram pela primeira vez, uma artroplastia com interposição de metal. Desde então, as experiências e tentativas multiplicaram-se à mesma razão dos estudos sobre a tolerância dos tecidos à inclusão de corpos estranhos [1,4].

Em 1902, Jones *et al.* interpuseram uma cápsula de ouro entre as cabeças da articulação, um feito notável, que se traduziu por um sucesso a longo prazo. Desta forma surgiu o conceito “*da necessidade da procura de materiais quimicamente mais inertes*” e, conseqüentemente, mais estáveis [1,3].

Em 1915, e contrariamente ao que muito frequentemente se acreditava, já era possível conduzir estudos de substratos depositados por *spray* (*flame-sprayed vitreous melts*). Esta pista foi subsequentemente abandonada, tendo as dificuldades de encontrar dispositivos capazes de efectuar o *spray* de vidros fundidos sido a principal causa deste abandono.

Em 1923, Smith-Peterson *et al.* desenvolveram um estudo com o objectivo de conseguir uma artroplastia estável e prática. Inicialmente empregaram cápsulas de vidro que vieram a revelar-se demasiado frágeis. Depois voltaram-se para um tipo de celulóide (*celluloid*), que já não existe no mercado hoje em dia que, por seu lado, produzia uma reacção excessiva por parte dos tecidos. Por fim, estes investigadores descobriram a liga *Vitallium* (*Vitallium alloy*), que quando comparada com todos os materiais empregues até então, mostrou possuir qualidades tais como resistência mecânica e inércia química que finalmente se revelou como material de eleição [1,3].

A primeira prótese de anca feita da liga *Vitallium* foi produzida por Bires e Wills, em 1938 e por Bursh, em 1939, o qual utilizou polimetilmetacrilato (PMMA) auto-polimerizante para sua fixação. Até 1960 a situação permaneceu inalterável, embora se tenham apercebido de que o contacto metal-metal era prejudicial, devido à corrosão [1].

Contemporaneamente à união metal-metal entre a cabeça e o acetábulo, em 1948, foi introduzida por Merle D'Aubigné a artroplastia com cabeça acrílica. Com este tipo de prótese

tornou-se evidente que a utilização deste tipo de substância para a cabeça do acetábulo tinha os seus inconvenientes e tinha de ser mudada. Em 1961, Müller desenvolveu um sistema em que a cabeça do fémur encaixava num acetábulo de Teflon, que contudo não era tolerado [1].

Durante a década seguinte, as soluções apresentadas para o acetábulo (em termos de geometria, ancoragem e pesquisa de materiais) foram melhoradas de forma considerável. Por volta dos finais da década de 60, o uso de polietileno (que já tinha sido introduzido e já era utilizado desde o início da década de 50), sofreu uma grande disseminação.

Infelizmente, estudos realizados em cobaias de laboratório, revelaram que muitos plásticos (incluindo o polietileno de elevada densidade) tinham potencial carcinogénico, o que lançou dúvidas quanto à utilização destes materiais em aplicações ortopédicas a longo prazo. Todos estes acontecimentos vieram, de certa forma, condicionar a escolha do tipo de materiais em aplicações biomédicas. Assim, na década de 70, Boutin *et al.* decidiram voltar as suas atenções para materiais que não apresentassem nenhum inconveniente do ponto de vista biológico. A sua atenção centrou-se em substâncias como a alumina (Al_2O_3), a zircónia (ZrO_2) e o aluminato de cálcio. A partir de alumina densa sinterizada foram produzidas próteses que conduziram a resultados favoráveis em muitas aplicações, que foram consideradas como praticamente intermináveis. Por volta de 1973, Nicolini iniciou experiências promissoras com vidros cerâmicos, cujas características mostraram ser mais favoráveis que muitos materiais até então utilizados [1].

As reacções adversas ocorridas na zona de ligação da prótese ao osso ficam a dever-se principalmente ao calor libertado durante a polimerização do PMMA (cimento utilizado para fixação de próteses) que, segundo Charnley *et al.*, na década de 70, podem atingir temperaturas da ordem dos 80-90°C. Esta situação constitui um problema visto que temperaturas acima dos 56°C conduzem à desnaturação das proteínas. Outro inconveniente é a citotoxicidade do monómero presente na mistura que, de acordo com Huffmann *et al.* e Hullinger *et al.* apresenta interacções farmacotóxicas com o ciclo de coagulação das gorduras. A passagem destes monómeros e de aminas terciárias, presentes na mistura como catalisadores, para a corrente sanguínea é prejudicial já que estes compostos podem interferir no equilíbrio da emulsão de gorduras no plasma sanguíneo. Contudo, as aplicações sem

cimento são pouco utilizadas pelos cirurgiões ortopédicos. Este é, no entanto, um caminho a seguir para se atingir uma melhoria qualitativa das operações protéticas [1].

As perspectivas, no que diz respeito às aplicações de próteses e sua ancoragem sem recorrer à utilização de cimentos, ou com uma ancoragem cujo único objectivo é a ligação imediata, apontam para a necessidade de se utilizar um material que não seja inerte, mas sim, biologicamente activo e estimule uma ancoragem natural. Esta necessidade de utilização de materiais bioactivos parece ser assegurada pela utilização de substâncias como a hidroxiapatite e alguns tipos de vidros bioactivos [1,5].

A produção de vidros bioactivos teve início em 1971, por Hench *et al.* e Brömer *et al.* [6,7]. A composição deste tipo de materiais tem vindo a ser desenvolvida e é actualmente utilizada para efectuar revestimentos de próteses metálicas, com o objectivo de conseguir uma ancoragem natural destas próteses, sem que com isso se renuncie às propriedades mecânicas das próteses metálicas. A solução para as próteses de anca consiste, de momento, em fabricar acetábulos e cabeças em alumina com revestimento das partes metálicas que se destinam à ancoragem com vidros bioactivos [1].

1.1.1 Aplicações da hidroxiapatite como Biomaterial

Em consequência da sua semelhança cristalográfica com o tecido ósseo calcificado, a hidroxiapatite (HA), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, tem atraído a atenção enquanto material de substituição para ossos ou dentes danificados, interesse que tem aumentado nas últimas décadas. Devido a essa semelhança, a HA, mostrou ser superior a qualquer outro material no que respeita à substituição óssea. A utilização de HA como biomaterial, bem como as suas propriedades físicas e químicas ligadas aos fenómenos *in vitro*, foram demonstradas experimentalmente com sucesso [8]. Estudos representativos sobre a dissolução e o crescimento de HA, revelaram-se particularmente importantes na elucidação dos mecanismos das cáries dentárias e dos mecanismos de degradação óssea [8].

Existem diversos tipos de implantes feitos de HA para aplicações ósseas, tendo os destinados à reparação de membros e do queixo sido alvo de um maior interesse e desenvolvimento. A HA encontra ainda aplicações no desenvolvimento de pastas para reparação de dentes [9]. As cáries dentárias são um problema de saúde que pode conduzir a uma rápida deterioração do dente atingido bem como dos dentes adjacentes. Além da patologia apresentada vários autores reportaram, complicações durante gravidez [10], complicações cardíacas [11], arteriosclerose [12], diabetes [13,14], que podem estar relacionadas com a bactéria responsável pelas cáries dentárias, a qual se disseminada pelo organismo através da corrente sanguínea. A estratégia para prevenir o desenvolvimento das cáries passa por um tratamento efectivo das primeiras lesões [15], no qual o esmalte superficial é removido. No tratamento médico convencional de cáries, a parte do dente afectada pela cárie é retirada por um processo mecânico sendo este espaço seguidamente preenchido por materiais estranhos ao corpo, como por exemplo, resinas ou metais com cimentos de base inorgânica que funcionam como colas [16,17].

Um dos problemas envolvidos nesta reparação é o frequente surgimento de cáries secundárias na interface entre o dente original e os materiais, ficando esta reincidência a dever-se ao enfraquecimento da adesão com o tempo. As diferenças de expansão térmica e contracção do esmalte do dente, e dos materiais de reparação (diferença esta causada pela diferente composição química e diferente estrutura cristalina), impossibilitam uma adesão perfeita, limitando gravemente a qualidade da reparação do dente afectado. A chave para contornar estas questões, passa pela reconstrução da zona afectada com HA, componente inorgânico presente na dentina e no esmalte, sem recorrer a brocagem. Existe hoje em dia, a possibilidade de recorrer a uma pasta com composição específica (à base de HA), que permite de uma forma rápida (uma questão de minutos) formar uma camada com algumas dezenas de micra, no local afectado, camada esta muito semelhante à camada de esmalte de HA [18]. A preparação deste tipo de pasta dentária, de uma forma muito sumária, segue o seguinte procedimento: um pó de HA com substituições de Flúor (F-HA) é misturado com uma HA deficiente em cálcio (razão molar $\text{Ca/P}=1,64$) numa solução de NaF. O pó de F-HA é dissolvido na solução mãe que contém H_3PO_4 e H_2O_2 , formando uma pasta densa. Uma pequena quantidade da solução mãe é aplicada na zona afectada, e em seguida aplica-se de imediato a pasta previamente preparada. Este processo de reparação termina ao fim de 15 minutos, e o habitual processo de brocagem com escavação de zona saudável do dente, deixa assim de ser necessário.

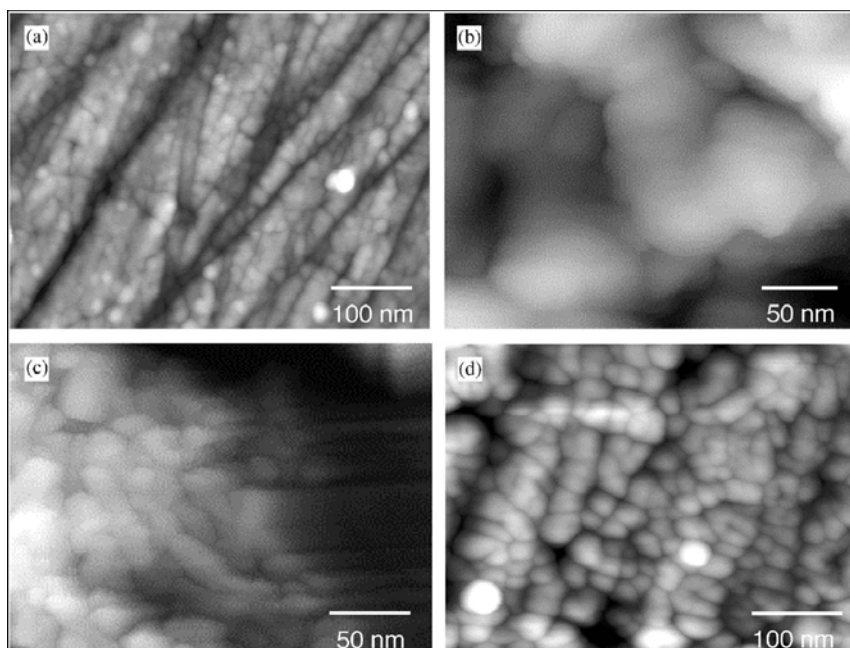


Figura 1: Imagens AFM dos diversos estágios do processo de reparação: (a) Superfície do esmalte dentário. Os blocos poligonais correspondem a monocristais de apatite na superfície; (b) Superfície após 30 s de tratamento. O esmalte dissolveu-se ligeiramente, e desenvolveram-se grãos irregulares; (c) Superfície após 1 min de tratamento. Deu-se início ao crescimento de novos cristais de HA na superfície (parte esquerda da fotografia); (d) Superfície após 3 min. Os novos cristais formados cobrem completamente a superfície, apresentando uma morfologia de empacotamento denso. Adaptado de Onumaa *et al.* [9].

A Figura 1 apresenta fotografias de microscopia de força atômica, AFM (*Atomic Force Microscopy*) obtidas de uma amostra de dente sujeita a um processo de tratamento igual ao descrito anteriormente.

Contudo, o processo de produção de HA sofreu um aumento nos últimos anos e a justificar este aumento está a diversificação nos seus campos de aplicação. Recentemente a aplicação da HA estendeu-se a outros campos como da electrónica e química de superfícies (ou química de adsorção), onde os pós de HA são utilizados como sensores de gás, catalizadores e adsorventes cromatográficos [8].

1.2 Estrutura e propriedades da hidroxiapatite

Tanto as actuais bem como as potenciais aplicações da HA, advêm essencialmente da sua estrutura. A HA forma facilmente soluções sólidas via reacções químicas com vários tipos de óxidos metálicos, haletos e carbonatos. Os catiões Ca^{2+} podem ser substituídos em relativa extensão por catiões monovalentes (Na^+ e K^+), bivalentes (Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pr^{2+}) e trivalentes (Y^{3+}), enquanto que o OH^- pode ser substituído por halogenetos ou iões carbonato. [19] A estrutura da HA mantém-se numa ampla gama de composições não-estequiométricas. As apatites deficientes em Ca ou parcialmente desidratadas (deficientes em OH^-) são as mais comuns. O grau da sua não-estequiometria está relacionado com o método de síntese utilizado. É importante realçar que, embora o grau de desidratação tenda a aumentar com o aumento da temperatura de tratamento térmico, os iões OH^- permanecem na estrutura da HA até temperaturas tão elevadas como 1350°C . Esta estabilidade térmica viabiliza as etapas de calcinação e de sinterização ao longo do processamento cerâmico da HA. A estabilidade térmica da HA permite ainda a sua utilização em transporte de massa e adsorção de gases [20].

1.2.1 Natureza química

Em termos gerais, podemos definir as apatites do ponto de vista químico através da seguinte fórmula:



Em que as letras M, X e Z representam:

$\text{M}^{2+} = \text{Ca}^{2+}, \text{Sr}^{2+}, \text{Ba}^{2+}, \text{Cd}^{2+}, \text{Pb}^{2+}$, etc. (em geral um catião divalente)

$\text{XO}_4^{3-} = \text{AsO}_4^{3-}, \text{VO}_4^{3-}, \text{CrO}_4^{3-}$ ou MnO_4^{3-} (em geral um anião trivalente)

$\text{Z}^- = \text{OH}^-, \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-$, etc. (em geral um anião monovalente)[21,22].

As apatites formam soluções sólidas como resultado da substituição iônica nos locais M^{2+} , XO_4^{3-} ou Z^- . De um modo geral, as apatites são não-estequiométricas, com uma estrutura cristalina deficiente em íons M^{2+} e em íons Z^- relativamente aos 6 mol de íons XO_4^{3-} .

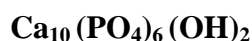
Podem existir estruturas iônicas mais complexas. Por exemplo, substituindo dois íons monovalentes Z^- por um íon bivalente como o CO_3^{2-} pode continuar a ter-se neutralidade de carga com a criação simultânea de uma lacuna aniônica. Do mesmo modo, podem existir posições M^{2+} livres (“lacunas”). Neste caso, a neutralidade de carga é mantida por lacunas nas posições Z^- ou por substituição de alguns íons trivalentes PO_4^{3-} por íons bivalentes.

Os minerais apatíticos podem ser encontrados tanto em rochas ígneas como sedimentares ou metamórficas. Os minerais mais abundantes que contêm cálcio e fósforo estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Minerais apatíticos mais abundantes que têm na sua composição cálcio e fósforo.

Minerais apatíticos	Fórmula química
Fluoroapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6F_2$
Cloroapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6Cl_2$
Hidroxiapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$
Podolite	$Ca_{10}(PO_4)_6CO_3$
Dalite	$Ca_{10}(PO_4, CO_3)_6(OH)_2$
Francolite	$Ca_{10}(PO_4, CO_3)_6(F, OH)_2$

A apatite mais frequente é a hidroxiapatite (HA), a qual apresenta uma rede cristalina do tipo hexagonal e a seguinte fórmula química:



com as seguintes percentagens em peso: 39,9% Ca, 18,5% P e 3,38% OH, com uma razão $Ca/P = 1,67$.

1.2.2 Estrutura

A HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, é usada como modelo para componentes inorgânicos dos ossos e dentes. Contudo, as apatites, tal como ocorrem nos tecidos biológicos, formações minerais e produtos de laboratório, podem incorporar uma vasta variedade de impurezas e raramente são encontradas na sua forma estequiométrica.

A estrutura da HA tem sido estudada por muitos investigadores, tendo sido identificada com muita precisão e detalhe as posições dos seus iões constituintes. Apesar de tudo, a ocupação dos locais e configuração de iões OH^- ainda não se encontra bem estabelecida como referem Suetsugu *et al.* [23], apesar da sua importância para a compreensão do crescimento de cristais de HA e mecanismos de regeneração, especialmente para o desenvolvimentos de implantes biocompatíveis.

Este obstáculo deve-se à dificuldade em obter monocristais para análise por difracção de Raio-X. Apesar das dificuldades, foram já sintetizados em condições hidrotermais pequenos monocristais de HA de forma cilíndrica, com 8 mm de comprimento e 0,5 mm de diâmetro [22]. Foram ainda obtidos cristais de maiores dimensões ($7 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$) com composição estequiométrica.[24] Terra *et al.* [25] realizaram estudos teóricos, efectuando cálculos (“*self-consistent embedded-cluster density functional*”) com vista a investigar a estrutura e ligações na HA estequiométrica. Em termos de estrutura, o tipo de célula unitária que a hidroxiapatite pode assumir é:

simetria com grupo espacial $\text{P2}_1/\text{b}$ e simetria com

grupo espacial $\text{P6}_3/\text{m}$. A Figura 2 apresenta de forma esquematizada os elementos de simetria do grupo espacial $\text{P6}_3/\text{m}$ da célula unitária da HA [21,22]. A forma de HA mais comum é hexagonal.

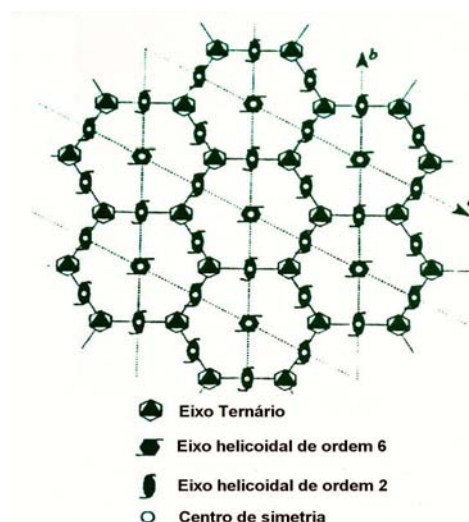


Figura 2: Elementos de simetria do grupo espacial $\text{P6}_3/\text{m}$ na célula unitária de hidroxiapatite. Adaptado de Rodríguez [22].

Esta estrutura apresenta os seguintes parâmetros de rede: $a = 9,432 \text{ \AA}$, $b = 9,432 \text{ \AA}$ e $c = 6,881 \text{ \AA}$, $Z = 1$ [22,26]. Os 10 cátions de Ca^{2+} ocupam dois locais cristalográficos de simetria diferente, 4f e 6h (segundo a notação de Wyckoff). Quatro cátions Ca^{2+} (4f) encontram-se em colunas a $1/3, 2/3, 0$ e $2/3, 1/3, 0$, separados por aproximadamente metade do eixo c (Figura 3). Estas são frequentemente referidas como Ca(1) (ou simplesmente, coluna de Ca). Ca(1) faz coordenação com nove átomos de O, com 6 ligações curtas que definem aproximadamente um prisma trigonal e três ligações longas tapando as faces do prisma. O poliedro Ca-O₉ partilha as faces trigonais, formando cadeias paralelas ao eixo c . Os restantes seis cátions Ca^{2+} (locais 6h, referidos como Ca(2) ou Ca triangular) formam dois conjuntos triangulares a $z=1/4$ e $z=3/4$ nos planos do espelho. Os cátions Ca(2) são heptacoordenados, com seis átomos de O e um ião OH^- (hidroxilo). Os seis aniões PO_4^{3-} ocupam posições 6h similarmente aos cátions Ca(2), em posições triangulares expandidas.[22]

Os poliedros adjacentes Ca(1) e Ca(2) encontram-se ligados através dos átomos de oxigénio dos tetraedros PO_4^{3-} (Figura 4). Em virtude da simetria de espelho imposta pelo grupo espacial, cada ião OH^- tem que ser considerado em posições estatisticamente aleatórias (4e), ambos acima e abaixo do plano de espelho para $z=1/4$ e $z=3/4$. Foi mostrado por estudo de difracção de neutrões, que os átomos de oxigénio em iões hidróxido encontram-se a $0,34 \text{ \AA}$ do plano de espelho, com a direcção dos OH^- apontando no sentido de afastamento dos planos de espelho.

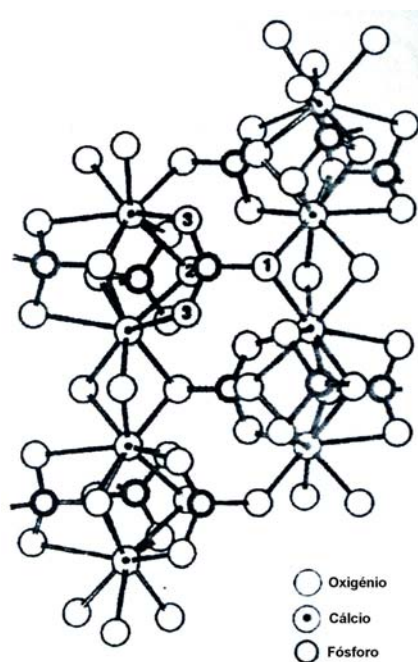


Figura 3: União das colunas de Ca (1)-O através dos tetraedros de PO_4 na HA. Adaptação de Rodríguez [22].

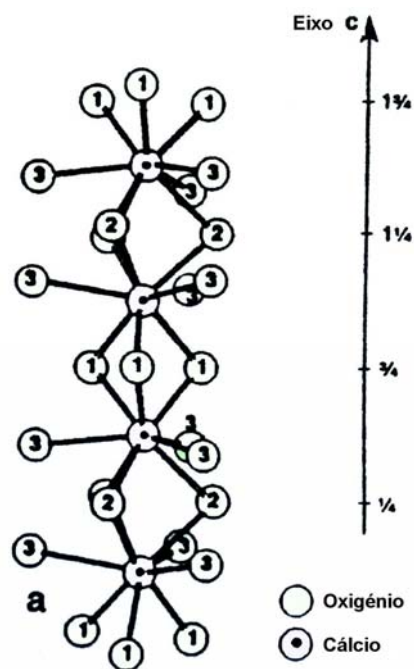


Figura 4: Poliedro de coordenação dos iões de Ca(1) na HA. Adaptado de Rodríguez [22].

Uma estrutura média pode implicar que, em aproximadamente metade das células unitárias, os íons OH^- apontam para um ponto mais afastado do plano de espelho e, nas restantes células unitárias, apontam para baixo. Contudo, este desarranjo não é necessariamente aleatório. Como resultado, em termos de visualização tridimensional, temos uma rede de tetraedros de PO_4 misturados com colunas de íons de Ca^{2+} e com canais passando através destes mesmos. O eixo destes canais coincide com o eixo helicoidal de ordem 6 e os vértices da célula unitária [22,26].

Os grupos OH e os Ca(2) situam-se nestes canais. Cada canal apresenta 6 posições livres por célula unitária e nos planos de simetria para $z=1/4$ e $z=3/4$. Nestas posições situam-se os Ca(2), formando dois triângulos rodados 60° um relativamente ao outro (Figura 5). Os Ca(2) são heptacoordenados com:

um O(1), um O(2), dois O(3), mais dois O(3) (a uma distância superior) e o OH. Os OH situam-se no centro dos canais sem cruzar nenhum dos planos de simetria. Esta situação provocaria que os H estariam demasiado próximos, uns relativamente aos outros, o que torna necessária a existência de uma certa ordem nas colunas de OH, e além disto, esta ordem deverá estar de acordo com a existência do plano de simetria do grupo $\text{P6}_3/\text{m}$. Foram propostos vários modelos para explicar esta situação:

- *Modelo de coluna desordenada*: no qual é proposto que os grupos hidroxilo apresentam variação na sua orientação ao longo dos diversos pontos da coluna;
- *Modelo de coluna ordenada*: no qual os grupos hidroxilo de uma coluna estão orientados com a mesma direcção, contudo esta mesma é aleatória.

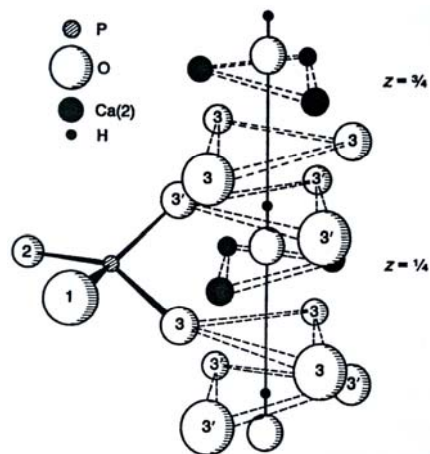


Figura 5: Esquematização da disposição dos íons Ca(2) na HA formando canais ao longo do eixo c. Adaptado de Rodríguez [22]

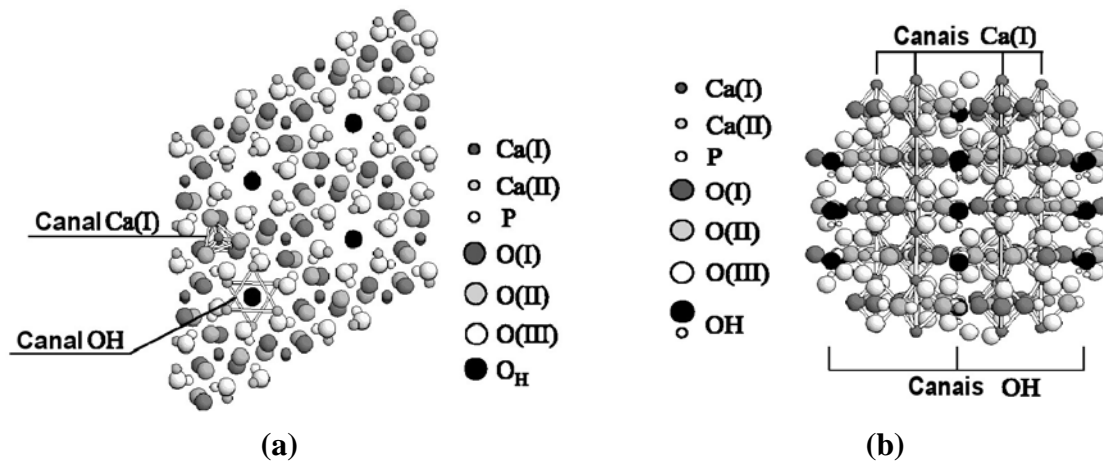


Figura 6: Esquematização dos canais de Ca(1) e OH. (a) vista de topo; (b) vista de frente. Adaptado de Terra *et al.* [22].

Estes modelos são indistinguíveis do ponto de vista de difracção. A Figura 6 apresenta de uma forma esquemática a estrutura da HA, vista de topo (a) e vista de frente (b).

1.2.3 Propriedades mecânicas

Os estudos sobre as propriedades mecânicas da HA evoluíram no sentido de superar a fragilidade inerente aos cerâmicos policristalinos e de realizar a sua aplicação prática como material de implante bioactivo. A resistência mecânica da HA tem vindo a ser melhorada ao longo do tempo com o objectivo de se atingir valores comparáveis ou mesmo superiores aos apresentados pelos tecidos ósseo e dentes humanos. Como consequência, alguns biomateriais cerâmicos fabricados com HA, apresentam valores de resistência à compressão, resistência à tracção e resistência à torção, algumas vezes superiores aos valores apresentados pelo osso humano e dentes.

Tabela 2: Resumo comparativo das propriedades físicas do esmalte, osso e HA.

		Esmalte (HA:92%-97%)	Osso (HA: 60%-70%)	Corpo de HA sinterizado	
				Denso	Poroso
Densidade (g/cm ³)		2,9-3,0	1,5-2,2	3,156	-
Densidade relativa (%)		-	-	95-99,8	50-70
Tamanho de grão (µm)		-	-	0,2-25	-
Resistência mecânica	Compressão	250-400	140-300	270-900	30-100
	Flexão	-	100-200	80-250	-
	<i>Tensile</i>	-	20-114	90-120	-
	<i>Diametral</i>	-	-	35-95	-
Módulo de young (GPa)		40-84	10-22	35-120	-
Tenacidade à fractura (MPa m ^{1/2})		-	2,2-4,6	0,7-1,2	-
Dureza Viker's		3,4-3,7	0,4-0,7	3,0-7,0	-
Capacidade calorífica (cal/grau.mol)		-	-	184	-
Condutividade térmica (W/cm.K)		-0,009	-0,006	0,013	-
Coeficiente de expansão (x10 ⁻⁶)		-	-	11-14	-

Por outro lado, os sinterizados porosos de HA têm a vantagem de serem completamente convertidos em osso natural, tal como referem Rejda *et al.* [27]. Tais materiais porosos apresentam geralmente desempenhos inferiores no que respeita a esforços de tracção [28]. A HA porosa pode ser aplicada como implante em zonas não sujeitas a solicitações mecânicas significativas. Desta forma, tanto os cerâmicos densos como os cerâmicos porosos de HA têm sido objectos de estudos e investigações intensas com vista a alargar o campo das suas aplicações. Contudo existem alguns problemas a serem ultrapassados no que diz respeito às suas propriedades mecânicas, como sejam a resistência à fractura e resistência ao impacto.

Do ponto de vista mecânico, a HA estequiométrica apresenta as seguintes propriedades [29,30]:

densidade (g/cm³) = 3,16;
 dureza Vickers (HV) = 600-800;
 resisistência à compressão (MPa) = 500-1000;
 resisistência à flexão (MPa) = 115-200;
 Módulo de Young (GPa) = 80-117;
 Tenacidade à fractura K_{IC} (MPa.m^{1/2}) = 1,0;
Slow Crack Growth (n) = 12-27.

É relevante referir, que do ponto de vista prático, a utilização de HA no fabrico de biomateriais e sua aplicação no que respeita às propriedades mecânicas, está fortemente dependente de todo o processo de fabrico subjacente. Os trabalhos de With *et al.* [30] permitiram concluir que os valores de tenacidade à fractura são fortemente condicionados pelo meio em que a HA se encontra. Por exemplo, neste mesmo trabalho foi referido que o valor de K_{IC} é $1,0 \text{ MPa.m}^{1/2}$ em meio seco, mas o mesmo valor cai cerca de 75% quando a amostra é sujeita a um ambiente húmido, $K_{IC}=0.25 \text{ MPa.m}^{1/2}$. Lu *et al.* [31] conduziram trabalhos de síntese de pós de HA policristalina por *freeze-drying* e concluíram que por este processo, o valor HV é superior quando comparado com amostras de pós de HA obtida por *hot-drying*.

1.2.4 Características Espectrográficas

A absorção espectrográfica da HA resulta das vibrações dos iões fosfato e iões hidroxilo. A Figura 7 mostra o espectro de absorção de infravermelho (IV) da HA estequiométrica. O tetraedro livre PO_4^{3-} tem modos vibracionais activos tais como (A_1 , $\nu_1=980 \text{ cm}^{-1}$), (E , $\nu_2= 363\text{cm}^{-1}$), e (F_2 , $\nu_3= 1082 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_4= 515 \text{ cm}^{-1}$). À medida que se perde a simetria num cristal, o espectro desdobra-se em picos mais complexos. A simetria do grupo fosfato (6/m) na estrutura da HA dá origem a 9 modos de vibração activa no espectro de IV, seis destes (ν_1 , ν_{2a} , ν_{3a} , ν_{3b} , ν_{4a} , ν_{4b}) são vibrações pertencentes a E_{1u} , na qual os movimentos dos átomos são simétricos relativamente ao plano de

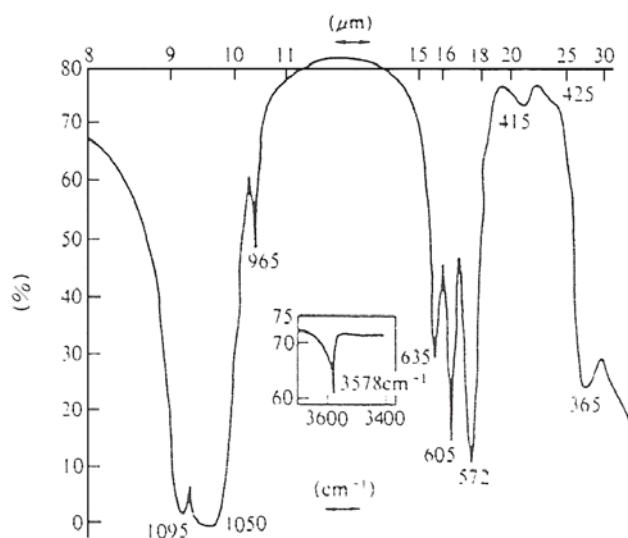


Figura 7: Espectro de absorção de infravermelho de HA estequiométrica. Adaptado de Kanazawa *et al.* [8].

espelho. As restantes três vibrações (ν_{2b} , ν_{3c} , ν_{4c}), nas quais os movimentos dos átomos são antisimétricos relativamente ao plano de espelho, pertencem à simetria A_u [8].

Relativamente à formação de ligações de hidrogénio, a absorção IV por parte dos grupos OH é observada a 3573 cm^{-1} e 631 cm^{-1} e associam-se respectivamente a alongamentos (ν_s - *Stretching*), e oscilação em torno de um eixo de rotação (ν_L - *Librational*). A banda correspondente aos alongamentos do OH, que aparece sob a forma de um pico simétrico e estreito, cai num intervalo indicativo de grupos OH ligados por ligações fracas de hidrogénio. Os únicos átomos na estrutura da HA que se podem associar a este tipo de ligações, são os átomos de oxigénio na vizinhança dos grupos OH e PO_4 . Na HA, o comprimento da ligação O-O entre grupos OH vizinhos é 3.44 \AA , demasiado grande para que se formem ligações de hidrogénio, enquanto que o átomo de oxigénio do grupo fosfato se encontra a 3.05 \AA de distância do átomo de oxigénio do grupo hidroxilo. Assim, a ligação do H pode ocorrer entre o OH e o PO_4 :

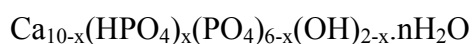


Foi proposto que a HA não estequiométrica, contém algumas moléculas de água após síntese química por via húmida. Nestes casos podem verificar-se movimentos reversíveis do hidrogénio, de $\text{HPO}_4^{2-} \dots \text{OH}^-$ para $\text{PO}_4^{3-} \dots \text{H}_2\text{O}$ [32]. Foi ainda sugerido que a ligação de hidrogénio de $\text{O-H} \dots \text{Cl}$ é mais forte quando comparada com a ligação $\text{O-H} \dots \text{F}$, embora F seja consideravelmente mais electronegativo do que o Cl (de acordo com o princípio de Pauli). Foi confirmado a partir de resultados IV que, com a incorporação de iões de F^- , a banda de alongamento do OH da HA sofre um deslocamento para 3514 cm^{-1} , enquanto que a incorporação de iões de Cl^- conduz a um maior deslocamento para 3495 cm^{-1} . A ligação de hidrogénio será tanto mais forte, quanto maior for o desvio da banda de alongamento do OH^- [33,34].

1.2.5 Não Estequiometria

Uma das características da HA que a torna única é a sua multiplicidade de composições não estequiométricas. A HA obtida por precipitação a partir de soluções possui a estrutura de uma apatite. A composição estequiométrica possui uma razão molar Ca/P=1,67 e um teor de H₂O=1,79 em peso. A razão Ca/P é comumente utilizada como índice da não estequiometria. A maioria dos pós sintetizados por via húmida, são não estequiométricos como confirmado através de diversos estudos detalhados.

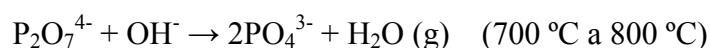
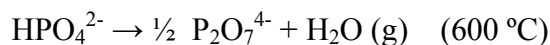
A não estequiometria é normalmente expressa através da seguinte fórmula genérica:



$$0 < x < 1 \text{ e } n = 0-2,5$$

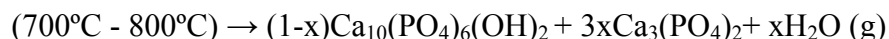
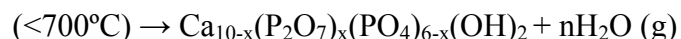
Esta fórmula assume uma deficiência em cálcio, sendo o balanço total de carga compensado pela introdução de H⁺ e a formação de moléculas de H₂O substituindo OH⁻. Para além de Ca²⁺, PO₄³⁻ e OH⁻, admite-se que outras espécies iónicas como H₃O⁺, H₄O₄⁻, HPO₄²⁻ possam ser incorporadas durante o processo por via húmida [35]. Assume-se ainda que os iões H₃O⁺, H₄O₄⁻ e HPO₄²⁻ podem substituir os iões Ca²⁺ e PO₄³⁻, respectivamente, na rede da HA. Com efeito, os grupos iónicos HPO₄²⁻ e PO₄³⁻ e OH⁻ foram identificados por espectroscopia de infravermelho (IV) em precipitados de HA com razão Ca/P abaixo de 1,67.

Foi reportado que durante o tratamento térmico da HA não estequiométrica, o grupo iónico HPO₄²⁻ se decompõe em (P₂O₇⁴⁻) e PO₄³⁻ [36]:



Desta forma, a HA não estequiométrica (Ca_{10-x}(HPO₄)_x(PO₄)_{6-x}(OH)_{2-x}·nH₂O)

decompõe-se por desidratação de acordo com as seguintes equações:



Os compostos resultantes após o tratamento térmico, são HA estequiométrica e TCP. A temperaturas superiores a 900 °C, ocorre desidratação parcial, dependendo da pressão parcial de vapor de água:

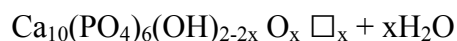


resultando em oxi-HA (oxi-hidroxiapatite).

1.2.6 Transporte de massa e propriedades eléctricas

1.2.6.1 Difusão e Condução Eléctrica

As cargas eléctricas na HA são predominantemente transportadas via difusão dos iões hidroxilo (OH^-) através dos locais de rede ao longo do eixo c. Para que seja possível a condução do OH^- , torna-se necessário a existência de lacunas. A existência de lacunas vai permitir que o OH^- troque de posição com as primeiras, quando sujeito a um campo eléctrico. Este mecanismo é possível, porque algumas lacunas de OH^- são introduzidas, não apenas pelos métodos de síntese química por via húmida mas também por sinterização [37,38,39]. Durante a sinterização a temperaturas superiores a 1100 °C, o $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ decompõe-se em oxi-HA:



O transporte de massa na HA desempenha um papel importante, quer em fenómenos de condução, quer nos fenómenos biológicos das cáries, degradação e crescimento de ossos, e trocas de iões Ca^{2+} em soluções.

Onde \square representa uma lacuna [40]. Por outro lado, os saltos protónicos em soluções sólidas de HA e fluoroapatite verificam-se em hidróxidos iónicos simples. Na migração de protões sob o efeito de um campo eléctrico, a distância entre iões OH^- adjacentes é 3.44 Å. O transporte de iões ao longo do eixo c determina as propriedades eléctricas da HA. Estes mecanismos implicam a reduzida contribuição do Ca^{2+} no transporte de carga [41]. A Figura 8 apresenta de forma esquemática o mecanismo proposto por Maiti e Freund para o movimento de protões na HA. No esquema apresentado, o protão move-se da direita para a esquerda (notar que o protão H^+ salta do grupo hidroxilo, ficando este como O^{2-} e o O^{2-} ao receber o protão H^+ passa a OH^-).

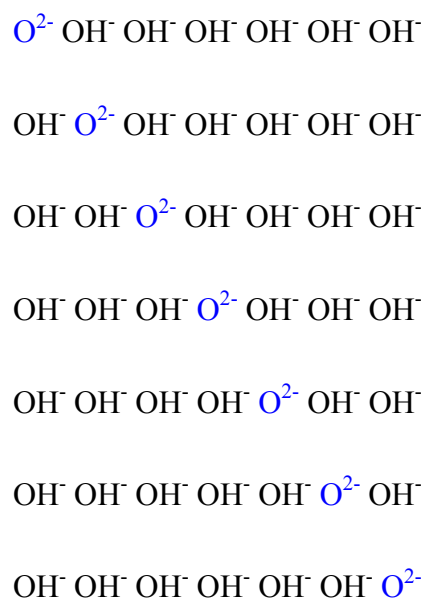


Figura 8: Esquema do mecanismo para o movimento de protões proposto por Maiti e Freund [34,40].

1.2.6.2 Propriedades Dieléctricas

A perda dieléctrica na HA foi descrita matematicamente por Royce [37], e relaciona-se com o comportamento dos iões OH^- , lacunas e impurezas. Foi mostrado que a perda dieléctrica se fica a dever a dois grupos de contribuições:

- contribuições da orientação dos dipolos das apatites;
- contribuições da condução iónica das apatites.

Foi ainda demonstrado que existe uma dependência entre a zona onde a contribuição do dipolo é dominante e frequência aplicada. As baixas temperaturas, a perda dieléctrica ocorre devido à reorientação dos dipolos, enquanto que a temperaturas elevadas, a perda dieléctrica é

dominada pela condução iónica. A partir do gráfico de Arrhenius desta dependência da frequência, determinou-se a energia de activação como sendo $0,77 \pm 0,03$ eV para o processo dipolar.

As propriedades dieléctricas da HA, ficam-se a dever principalmente à reorientação dos dipolos OH^- em colunas paralelas ao eixo c num campo eléctrico. Foram sugeridos dois modelos [42]:

- (1) Modelo de coluna ordenada, com todos os dipolos OH^- numa coluna a apontar na mesma direcção, em que as colunas vizinhas tem orientações opostas;
- (2) Modelo de coluna desordenada, no qual a orientação do OH^- é invertida em vários locais na mesma coluna.

Arends *et al.* [43] apoiou o modelo de coluna desordenada, baseando-se em estudos de relaxação dieléctrica, no qual se assume que a presença de lacunas dá início à reorientação de um dipolo OH^- próximo a uma lacuna. Hitmi *et al.* [44] estudaram a reorientação de OH^- realizando um conjunto de estudos, pela técnica das correntes estimuladas termicamente (TSC – thermally stimulated currents).

1.2.6.3 Aplicações como sensores de gases

Uma das aplicações da HA em electrónica, é a sua utilização no fabrico de sensores de gás para humidade CO-CO_2 [8], e de vários gases de álcoois [45]. A HA é considerada como um material interessante para o fabrico de sensores de humidade pois apresenta as seguintes características:

- 1) longa estabilidade ao longo do tempo; a resposta a variações de humidade é rápida e a condutividade à superfície apresenta uma grande variação;
- 2) a estabilidade da HA a temperaturas elevadas permite a sua limpeza, bastando para isso sujeitar os sensores a aquecimento;

como a HA consiste num único componente, podem fabricar-se muitos sensores com as mesmas características (isto é, permite uma grande reprodutibilidade em termos de características).

As características de sensibilidade relativamente à humidade são indicadas na Figura 9. A relação linear do logaritmo da resistência eléctrica e humidade relativa (HR) é obtida num intervalo de HR superior a 15%. A resistência diminui com $0,6\%HR/^{\circ}C$ à medida que HR aumenta. Adicionalmente, o tempo de resposta é consideravelmente reduzido. Os sensores de HA permitem obter valores de monitorização, numa janela de tempo entre 2 segundos e 15 segundos respectivamente, com mudanças de 0% a 51% de HR e 94% a 51% de HR.

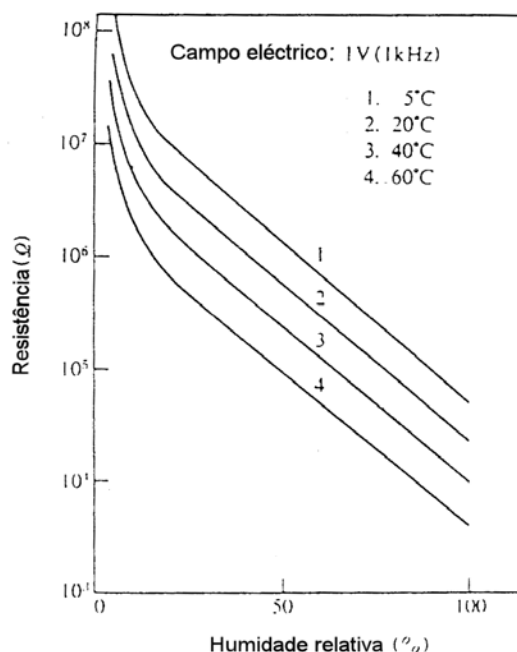


Figura 9: Características de trabalho de um sensor de humidade de HA. Adaptado de Kanazawa *et al.* [8].

Os sensores de álcoois, consistem de uma placa ou substrato de HA ($3.2 \times 3.2 \text{ mm}^2$ e 0.25 mm de espessura), o qual é acoplado com eléctrodos de ZnO e RuO_2 , exibindo estes sensores uma elevada sensibilidade a gases com álcoois. Este dispositivo tem uma sensibilidade de cerca de 50 para o álcool etílico, definida pela razão:

$(\text{resistência no } \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) / (\text{resistência no ar})$,
a temperaturas de 400 °C e 600 °C.

A Figura 10 ilustra os componentes do sensor, nos quais filmes espessos de HA são utilizados como substrato. A substituição parcial de Ca^{2+} por Na^+ ($\text{Na}/\text{Ca}=1/9$) revelou melhorar a sensibilidade. Neste dispositivo, a

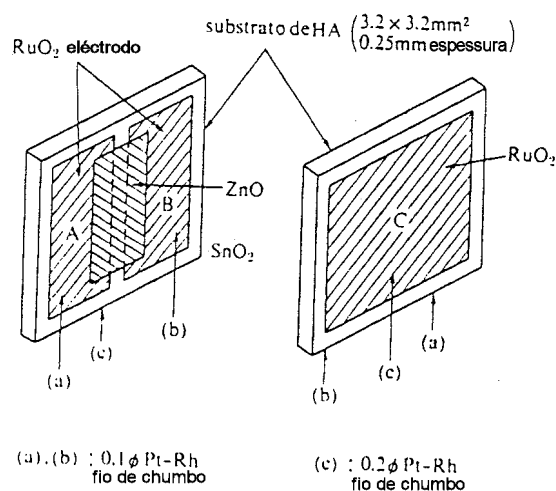
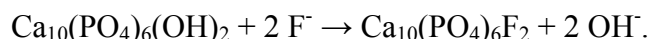


Figura 10: Estrutura de um sensor híbrido HA-ZnO. Adaptado de Kanazawa *et al.* [8].

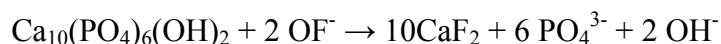
HA apresenta sensibilidade relativamente à humidade. Komine *et al.* [45] sugeriram que a HA adsorve quer o álcool quer a H₂O dando O²⁻ ou O⁻ para oxidar o álcool na interface entre ZnO e RuO₂. Os transportadores livres resultantes da oxidação reduzem a resistência do sensor.

1.2.7 Tomada de iões por troca iónica

A troca de iões de flúor por OH⁻ é um dos mecanismos para a tomada de F⁻ por parte da HA. Das reacções dos iões de flúor com a HA a baixas concentrações de F⁻ [83], foi postulado que a fluoroapatite se forma na superfície dos cristais por substituição de OH⁻ por F⁻ nos locais da rede. A reacção é escrita como:



Contudo, considerando o aumento no valor absoluto do potencial zeta da HA, Chander *et al.* [46] revelaram a existência de iões de flúor adsorvidos nas superfícies do cristal. A adsorção e a troca iónica, provavelmente contribuem em conjunto para a tomada de iões de flúor pela HA. Adicionalmente, a concentrações elevadas de F⁻ (>100 ppm), a troca é acompanhada pela decomposição parcial de acordo com a reacção[47]:



A troca de Ca^{2+} na HA é mais interessante, dando-se esta troca entre vários cátions existentes em solução. Suzuki *et al* [48] verificaram e estudaram a tomada de Cd^{2+} . A Figura 11 mostra o tempo que é necessário para se verificar a variação da concentração de Cd^{2+} numa experiência na qual 1g de HA (em pó) foi disperso numa solução inicialmente incluindo 100 ppm de Cd^{2+} . A partir do estudo de DRX, concluiu-se que a tomada de Cd^{2+} se encontra relacionada com a troca iônica de Ca^{2+} na HA. Este fenómeno foi também observado em soluções contendo Pb^{2+} [49]. 1g de pó de HA disperso em 400 cm³ de uma solução removeu entre 100 a 200 ppm de Pb^{2+} . Um estudo quantitativo de DRX (X-Ray Profile Fitting) mostrou que pó resultante da troca iônica possuía a seguinte composição: $\text{Pb}_{7,5}\text{Ca}_{2,5}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Foi proposto que os iões Pb^{2+} atacam de forma imparcial os dois locais dos iões Ca^{2+} , isto é, $\text{Ca}_{\text{I}}^{2+}$ e $\text{Ca}_{\text{II}}^{2+}$.

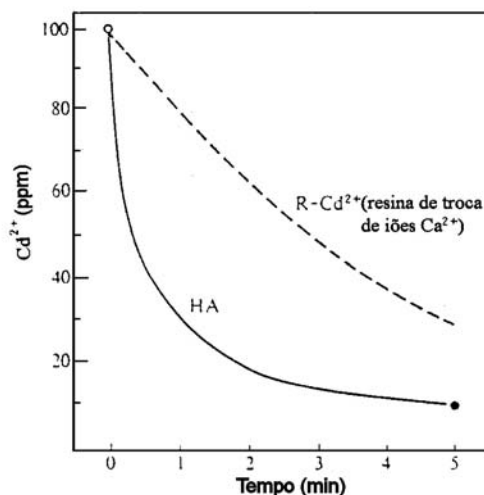
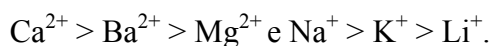


Figura 11: Curva da variação da concentração de Cd^{2+} versus tempo. Adaptado de Kanazawa *et al.* [8].

Contudo, deve realizar-se uma análise de superfície detalhada da troca iônica na HA para clarificar os mecanismos envolvidos. Os resultados descritos anteriormente indicam a potencial aplicação da HA para a remoção de iões tóxicos do ambiente.

As características de adsorção em soluções são também influenciadas pelas espécies iônicas, incluindo a valência e o tamanho iônico. A afinidade de ligação dos vários iões metálicos por parte da HA foi determinada, obedecendo à seguinte ordem é: [50]



A maior afinidade do Na^{+} em cátions monovalentes é atribuída à similaridade do Na^{+} com o Ca^{2+} em termos de raio iônico.

1.2.8 Adsorção e Catálise

1.2.8.1 Superfície de adsorção para compostos orgânicos

Na adsorção de CH_3OH sob a forma de gás na HA, a primeira monocamada é quimisorvida na superfície através de ligações de hidrogénio ou interacção dipolar entre o grupo OH^- do CH_3OH e PO_4^{3-} ou OH^- da HA. O calor específico de adsorção diferencial foi estimado em cerca de 16 a 23 kcal/mol. A segunda camada estabelece uma adsorção de tipo físico através de forças de Van der Waals no grupo hidrofóbico CH_3 da molécula CH_3OH adsorvida na 1ª camada. Quando o vapor de água é adsorvido na primeira camada é também quimisorvido com um calor específico de adsorção de 14 a 23 kcal/mol. Contudo, à medida que a segunda camada é adsorvida na primeira por intermédio das ligações de hidrogénio, deixa de se poder distinguir facilmente as camadas uma da outra, quando comparadas com o caso da adsorção de CH_3OH .

A superfície da HA é essencialmente hidrofílica, uma vez que a razão $S(\text{H}_2\text{O})/S(\text{N}_2)$ apresenta o valor de 0.85 [51], onde $S(\text{H}_2\text{O})$ e $S(\text{N}_2)$ são respectivamente os valores da área superficial específica da HA medidos com H_2O e N_2 .

Relativamente à capacidade de molhagem, foi relatada a seguinte ordem para a HA (desgaseificada a 300 °C):

$$\text{hexano (0.023 kcal/m}^2\text{)} < \text{2-propanol (0.132 kcal/m}^2\text{)} < \text{H}_2\text{O (0.175 kcal/m}^2\text{)} \text{ [52].}$$

Estes resultados mostraram que a superfície da HA interage fortemente com compostos polares. Na adsorção de compostos orgânicos líquidos, como por exemplo, aminoácidos e polipeptídeos, Ca^{2+} e PO_4^{3-} comportam-se essencialmente como locais da adsorção dos grupos ácido (-COOH) e básico (-NH₂), respectivamente, (Figura 12) [53]. Os compostos de baixo peso molecular são adsorvidos, assumindo uma orientação perpendicular à superfície

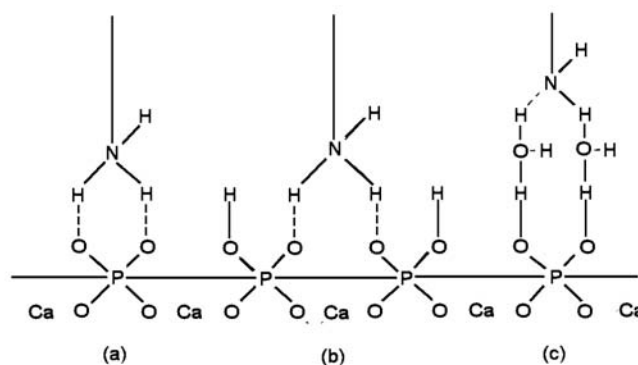


Figura 12: Várias orientações de grupos carregados positivamente à superfície (enamel crystallite surface): (a) directamente entre um grupo amina e um grupo fosfato; (b) entre um grupo amina e dois ou mais grupos fosfato; (c) indirectamente utilizando pontes de água. Adaptado de Kanazawa *et al.* [8].

da HA, através dos grupos funcionais, tais como o -COOH e -NH₂, enquanto que os polímeros assumem configurações paralelas à superfície, em virtude da influência das cadeias laterais.

A adsorção da maioria dos compostos orgânicos obedece à seguinte equação de Langmuir; de onde as características de adsorção são determinadas utilizando os parâmetros de Langmuir [54]:

$$\frac{C}{Q} = \left(\frac{1}{N} \right) C + \frac{1}{AN}$$

Onde:

C = concentração de equilíbrio do adsorvente;

Q = quantidade adsorvida por cada 1 g de HA

A = força de adsorção

N = número máximo de locais de adsorção por cada 1g de HÁ

Tabela 3: Valores de A (força de adsorção) e N (número máximo de locais de adsorção por cada 1g de HA) de alguns adsorventes para vários pontos isoelétrico (PIE).

Adsorvente	PIE (pH)	Lamgmuir A (ml/ μ mol)	Parâmetros N (μ mol/g)
Ácido L-aspartico	2,80	0,203	53,5
Ácido L-glutâmico	3,20	0,206	24,4
L-arginina	10,76	9,470	0,640

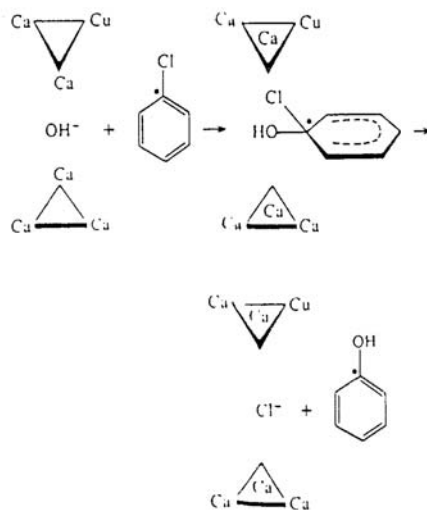
Na Tabela 3 encontram-se sumariados os valores de A e N de alguns adsorventes para vários pontos isoelétricos (PIE). Geralmente verifica-se as seguintes tendências para A e N:

A: aa. neutros << aa. ácidos < ac. dicarboxílicos << aa. Básicos
 N: polímeros < compostos de baixo peso molecular

1.2.8.2 Catálise

A actividade catalítica da HA, seja estequiométrica ou não estequiométrica ($\text{Ca}/\text{P} < 1,67$), foi observada em reacções de desidratação ou deshidrogenação de alguns álcoois tais como: [55,56,57]

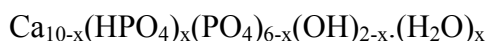
- etanol
- 2-butanol
- 2-propanol



A HA com Cu^{2+} (0,5% a 10%) cataliza de uma forma eficaz a hidrólise do clorobenzeno [56,58], como mostra a Figura 13. Este processo é empregue no método de Rasching para a síntese de fenol. Foram propostos uma variedade de mecanismos para a actividade catalítica da HA.

Figura 13: Esquema do mecanismo catalítico da HA na hidrólise do clorobenzeno. Adaptado de Kanazawa *et al.* [8].

Os grupos aniônicos de HPO_4^{2-} , moléculas de H_2O ou lacunas a ocupar os locais OH^- , são atribuídas ao seu comportamento enquanto um catalisador ácido:



ou



funcionam como ácido de Brönsted na desidratação de álcoois, enquanto que as lacunas de OH^- se comportam como locais ácido de Lewis [59]. Verificou-se que a HA pode funcionar como um catalizador básico na condensação do aldol da metilvinilcetona [60].

1.2.8.3 Aplicações à cromatografia líquida

As colunas de HA são utilizadas em cromatografia líquida de elevado desempenho (High Performance Liquid Chromatography - HPLC) para a separação de proteínas e ácidos nucleicos.

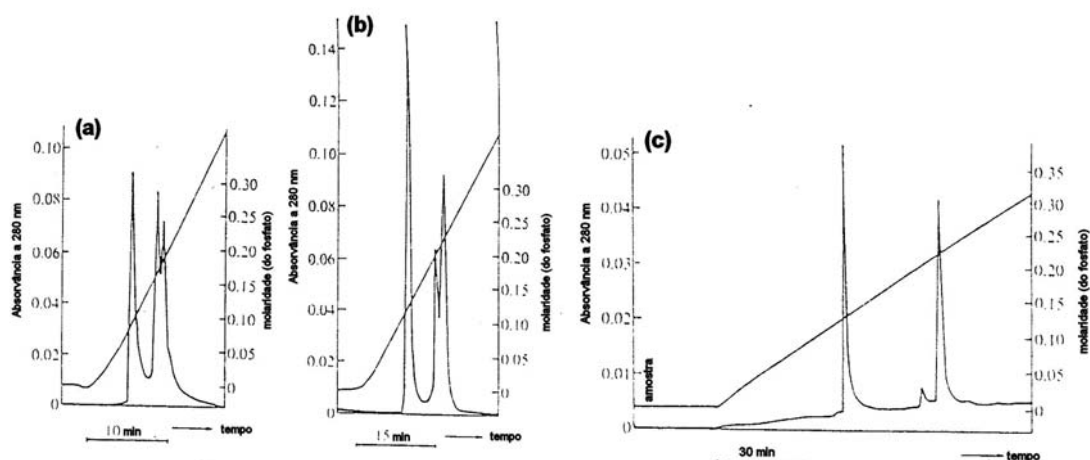


Figura 14: Cromatogramas de uma mistura de lisoenzimas (a) e (b) e citocromo c (c) utilizando uma coluna de esferas de HA. Adaptado de Kanazawa *et al.* [8].

A Figura 14 mostra os cromatogramas de uma mistura de lisoenzimas e citocromo c, utilizando uma coluna de esferas de HA [61].

De uma forma sucinta, os mecanismos apresentados para a adsorção e desorção de proteínas na HA são [62,63]:

1) Proteínas básicas, isto é, proteínas com ponto isoelectrico > 8 : a adsorção ocorre devido à interacção eléctrica entre os seus grupos -NH_4^+ e os grupos PO_4^{3-} da HA, como se mostra em seguida:



A desorção é conduzida por eluição dentro de uma solução eluente, devido à ligação química entre o NH_4^+ (das proteínas) e os grupos aniónicos da solução.

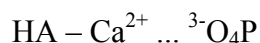
2) Proteínas ácidas, ou seja, proteínas com um ponto isoelectrico < 7 : a adsorção ocorre por formação de um complexo:



O mecanismo de adsorção proposto para o caso em que se emprega a eluição dos sistemas Na- PO_4 e Na-F é:



↓



Ou



Isto é atribuído ao facto de a força de ligação do Ca^{2+} com F^- e PO_4^{3-} ser mais forte que a formado entre a Ca^{2+} e a Proteína-COO^- .

1.3 Métodos de síntese de pós

O processamento de materiais cerâmicos e outros processos industriais que partem de materiais granulares, requerem a disponibilidade de pós com características adequadas (pureza, forma e tamanho de partícula, distribuição granulométrica, área específica). Os pós podem ser obtidos por cominuição e moagem de matérias-primas de composição adequada ou de produtos de reacção no estado sólido resultantes da mistura de diferentes precursores nas proporções requeridas depois de sujeitas a tratamento térmico adequado (*top down approach*), ou através da combinação de átomos e moléculas, nucleação e crescimento de partículas (*bottom up approach*). Esta última metodologia é a mais comumente usada em materiais avançados por permitir a obtenção de graus de pureza superiores e um melhor controlo de outras características relevantes dos pós.

Alguns métodos envolvendo reacções em fase de vapor apresentarem um elevado grau de sofisticação e são limitativos no que respeita à quantidade de pó produzido [64]. Os métodos envolvendo reacções no estado sólido dão pós menos homogéneos e menos reactivos. Por outro lado, as acções de moagem acarretam sempre alguma contaminação, resultando em graus de pureza mais baixos. Os métodos de síntese por via húmida permitem obter pós de quimicamente reactivos e de elevada pureza, oferecendo assim vantagens sobre os restantes.

A Tabela 4 resume os métodos mais comumente usados na síntese de pós de HA e a sua influência na morfologia das partículas.

Tabela 4: Métodos de síntese de pós de hidroxiapatite e sua morfologia. Adaptado de Kanazawa *et al.* [8].

Materiais iniciais		Condições	Temperatura/ Tempo (°C/h)	Ca/P Razão molar	Morfologia
Via Seca					
Ca ₃ (PO ₄) ₂ CaCO ₃		Excesso CaO, vapor H ₂ O (150-230 mmHg)	1300/1	1,67	Aglomerados (10-30 µm) ligeiramente sinterizados
Ca ₂ P ₂ O ₇ CaCO ₃		Mistura estequiométrica, vapor H ₂ O (1140 mmHg)	900/24	1,67	-
CaHPO ₄ ·H ₂ O CaO		Mistura estequiométrica, vapor H ₂ O (150-200 mmHg)	900-1300/3	1,67	Lamelares
Via húmida					
Precipitação	(NH ₄) ₂ HPO ₄	pH=9,5	25/24	1,50	Aglomerados de grânulos
	Ca(NO ₃) ₂	(NH ₄ OH)			
	NH ₄ H ₂ PO ₄	pH=7 – 11	-	1,50-1,67	-
	Ca(NO ₃) ₂	(NH ₃ , NH ₄ NO ₃)			
	NH ₄ HPO ₄	pH=8,5 – 9,5	100/>5	1,68	Grânulos
	Ca(NO ₃) ₂	(NH ₃)			
	CH ₃ COONH ₄				
	NH ₄ HPO ₄	pH=3,5 – 9,5	100/>5	1,73	Whiskers
	Ca(NO ₃) ₂	(NH ₃)			
	CH ₃ COONH ₄				
	Na ₂ HPO ₄	pH=8,5 – 9,5	70/24	1,65	-
	CaCl ₂	(NH ₄ OH)			
	H ₃ PO ₄	-	100/18	1,67	-
	CaCl ₂				
	NaH ₂ PO ₄	pH=8,5	95/24	1,67	Grânulos
	Ca(NO ₃) ₂				
Hidrólise	CaHPO ₄ ·2H ₂ O	pH=8,5	100/<0.25	1,45-1,61	Grânulos
	H ₂ O	(NH ₃)	0.5/>0.75	1,67	
				1,67	
	CaHPO ₄ ·2H ₂ O	pH=8,5	40/3	1,51	Lamelares com whiskers
	H ₂ O				
	A-Ca ₃ (PO ₄) ₂	pH=5,5-10	80/2-3	1,50	Aglomerados de partículas lamelares e agulhas.
	H ₂ O			1,68	

1.3.1 Métodos químicos por via seca – reacções no estado sólido

Nos métodos por via seca recorre-se ao uso de reacções no estado sólido entre compostos de Ca e P. Estes métodos tem como vantagem fornecer pós de HA estequiométrica (Ca/P=1,67). A síntese por estes métodos é feita a temperaturas elevadas, na presença de vapor de água; a água funciona como fonte de OH⁻ na HA. Ca₃(PO₄)₂, Ca₂P₂O₇, CaHPO₄·2H₂O e Ca(OH)₂ são os constituintes iniciais do fosfato de cálcio mais comumente utilizados na síntese da HA. A seguinte reacção de síntese de HA foi utilizada em condições de temperatura (1200-1300 °C), duração de 2-3h e água parcialmente pressurizada a 3 kPa.



Adiciona-se um excesso de CaO para promover a reacção. A Figura 15 mostra o gráfico da razão de conversão de TCP *versus* tempo, de acordo com a equação para a reacção do estado sólido. A partir da linearidade da relação e de estudos de DRX, propôs-se que o processo de síntese é fortemente condicionado pela difusão de CaO através da camada de HA formada nas partículas de TCP (Fosfato

Tricálcico). A energia de activação foi determinada experimentalmente, tendo-se obtido o valor de 45 kcal/mol [8].

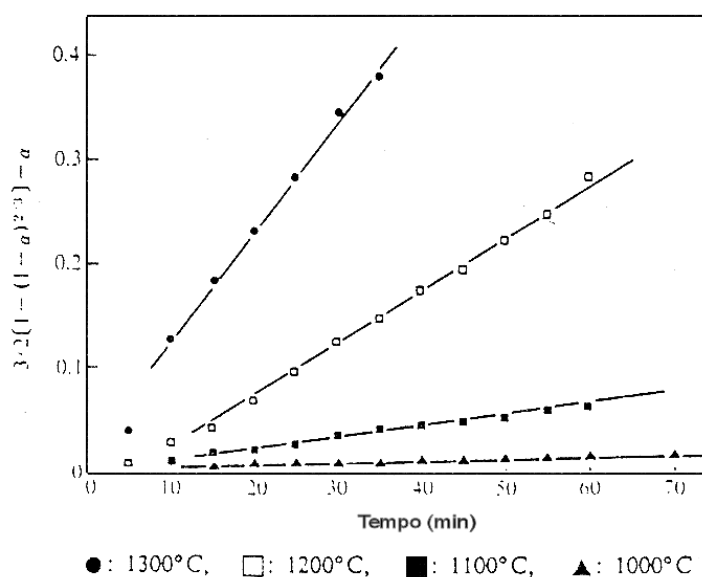
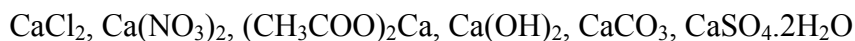


Figura 15: Gráficos obtidos a partir da utilização da equação da razão para a reacção sólido-sólido por Shinriki-Kubo. Adaptado de Kanazawa *et al.* [8].

1.3.2 Métodos químicos por precipitação e hidrólise

Os métodos químicos por via húmida utilizam tanto a precipitação por mistura de soluções aquosas, ou a hidrólise de fosfatos de cálcio. Como se pode verificar na Tabela 4 os pós de HA que são produzidos por via húmida possuem, geralmente, valores elevados de área superficial específica e tamanhos de partícula reduzidos. A não estequiometria (deficiência de Ca^{2+} ; $\text{Ca/P} < 1,67$) e a baixa cristalinidade, são também características dos processos de síntese de HA por precipitação. Estes devem-se principalmente ao facto de um gel amorfo de fosfato de cálcio (ACP) com baixa razão Ca/P ($\approx 1,50$) precipitar como precursor e à incorporação de uma determinada quantidade de água no ACP. A cristalinidade e a Ca/P dependem de diversos factores, tais como o pH, tempo de envelhecimento e temperatura, bem como do tipo e da concentração dos reagentes de partida.

No caso da síntese de HA por precipitação, o cálcio é geralmente fornecido por um dos seguintes compostos:



No caso do fósforo, os compostos de partida podem ser:

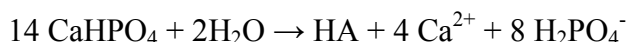


Ao longo do processo de síntese, o pH da solução deve ser controlado para um valor acima de 7. Este controle pode ser feito com gás de amónia (NH_3), NH_4OH e NaOH . Deve-se utilizar uma atmosfera de azoto durante a mistura das soluções com o intuito de remover o CO_3^{2-} .

A síntese por hidrólise é realizada em condições mais fáceis de controlar (Tabela 4), e podem ser obtidos pós de HA com diversas razões de Ca/P (1,50-1,67). A morfologia dos pós é influenciada pela morfologia dos cristais do fosfato de cálcio. Na síntese química por via húmida, a morfologia dos aglomerados é geralmente influenciada não apenas pelo método, mas também pela técnica de secagem dos precipitados [8,65].

1.3.3 Síntese de Monocristais

A síntese de monocristais é importante para a realização de estudos teóricos e determinação de várias propriedades, incluindo a estrutura cristalina, mas envolve geralmente dificuldades práticas apreciáveis relacionadas com a sofisticação dos equipamentos e das rigorosas condições de controlo das variáveis do processo. No caso da obtenção de monocristais de HA de grande dimensão as dificuldades são acrescidas devido ao facto da HA ter uma grande tendência a incorporar impurezas, à estabilidade das composições não estequiométricas, e à área restrita do diagrama de fases CaO-P₂O₅-H₂O onde a HA e H₂O co-existem. Devido à capacidade dos minerais de HA de incorporarem uma grande variedade de impurezas, não é possível encontrar monocristais naturais de HA para a determinação de propriedades. Assim, monocristais de HA com dimensões apreciáveis foram obtidos utilizando soluções sobressaturadas de fosfato de cálcio (CaHPO₄) de acordo com a seguinte reacção química:



sob uma pressão de vapor de água de 8.6 Pa e uma temperatura de 300 °C durante 10 dias. Os cristais produzidos apresentam dimensões 2x0.3x0.3 mm. A adição de pequenas quantidades de ácidos insaturados (particularmente ácido oleico), mostrou afetar a razão de aspecto dos monocristais.

Um método alternativo para o crescimento de monocristais de HA é a partir de um fundido do sistema TCP-Ca(OH)₂-H₂O sob uma pressão de 104 MPa e uma temperatura de 850-900 °C. Usando este método, Arends *et al.* [43] conseguiram obter cristais de HA (de elevada pureza), com comprimentos até 3.5 mm através da recristalização de pós muito puros de HA em autoclave a 200 MPa num intervalo de temperaturas de 430-500 °C.

A troca de iões de Cl⁻ e Br⁻ por OH⁻ foi outro método utilizado para obter monocristais de HA estequiométrica através da conversão de cristais de cloroapatite (Ca₁₀(PO₄)₆Cl₂) e bromoapatite (Ca₁₀(PO₄)₆Br₂) tirando vantagem da facilidade de obtenção das respectivas halogenoapatites estequiométricas a partir dos respectivos fundidos em cadinho de platina, sob uma corrente de vapor a temperatura elevada e durante um período de tempo longo [8].

2 Procedimento experimental

O procedimento experimental incluiu a realização de diversos ensaios de síntese e de caracterização dos pós de acordo com o diagrama esquematicamente apresentado na Figura 16.

A síntese de pós consistiu essencialmente na preparação das soluções de partida, iniciando-se com a pesagem dos reagentes adequados, a sua dissolução, e o ajuste das condições iniciais de temperatura e pH, e na sua admissão no reactor em condições predefinidas (controlo da temperatura e da velocidade de admissão das soluções no reactor).

As condições de funcionamento e operação do reactor (temperatura, pH dentro do reactor e a frequência de agitação) foram também mantidas sob controlo.

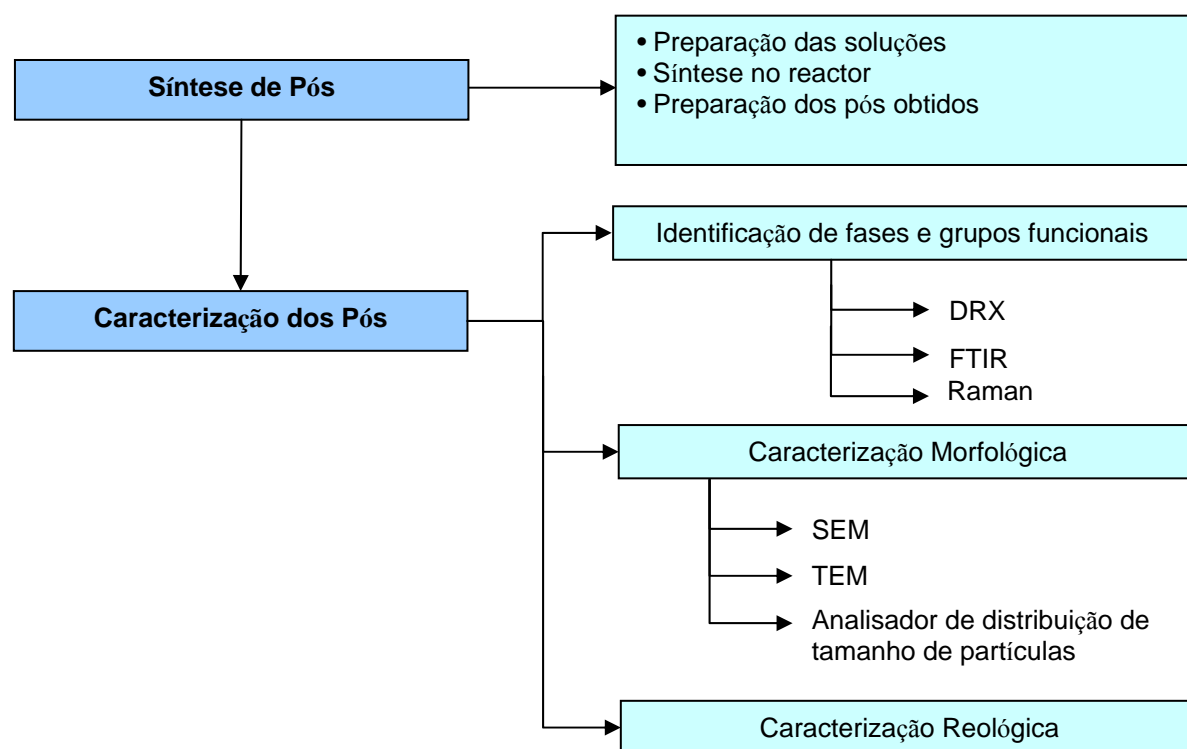


Figura 16: Fluxograma do procedimento experimental adoptado.

2.1 Síntese de pós

2.1.1 Descrição do equipamento utilizado na síntese de HA

A síntese de HA foi levada a cabo num reactor com uma capacidade de 6 dm³ constituído por um reservatório cilíndrico com uma tampa que encaixa na parte superior do mesmo fixada por duas molas de pressão. A tampa possui um conjunto de válvulas, através das quais se pode fazer a admissão dos reagentes no reactor. O reactor possui uma válvula na parte inferior para permitir a extracção dos produtos de reacção e dois nichos para acoplamento de duas sondas, uma de pH e outra de temperatura. Possui ainda uma válvula de segurança na parte lateral superior do mesmo, para permitir o escoamento de um eventual excesso de líquido de reacção. O reactor possui uma câmara envolvente, e esta, encontra-se ligada a um sistema de aquecimento termostatizado (*Haake DL 30 Thermo, Electron Corporation*). Este sistema permite seleccionar e manter a temperatura de operação do reactor num valor constante e homogéneo durante o processo de precipitação. Nesta câmara envolvente (“camisa de aquecimento”) corre um óleo sintético (*Synth 200*) aquecido pelo sistema anteriormente referido. A medição e aquisição de dados (temperatura e pH) foram feitas por um equipamento registador de pH e T (*CyberScan 2100* - Figura 17).

No interior do reactor existe um sistema de agitação constituído por uma dupla hélice, cujo movimento é controlado por um motor (*Siemens NTI*), no qual podemos escolher a frequência de agitação (*Siemens Micromaster Vector*). Existem um conjunto de lâminas dispostas no interior do reactor, umas fixas às paredes internas do mesmo e outras fixas à tampa do reactor. A função deste conjunto de lâminas é promover a agitação interna da solução durante o período de operação, permitindo assim uma maior homogeneização da mistura das soluções admitidas no interior do reactor (Figura 17).

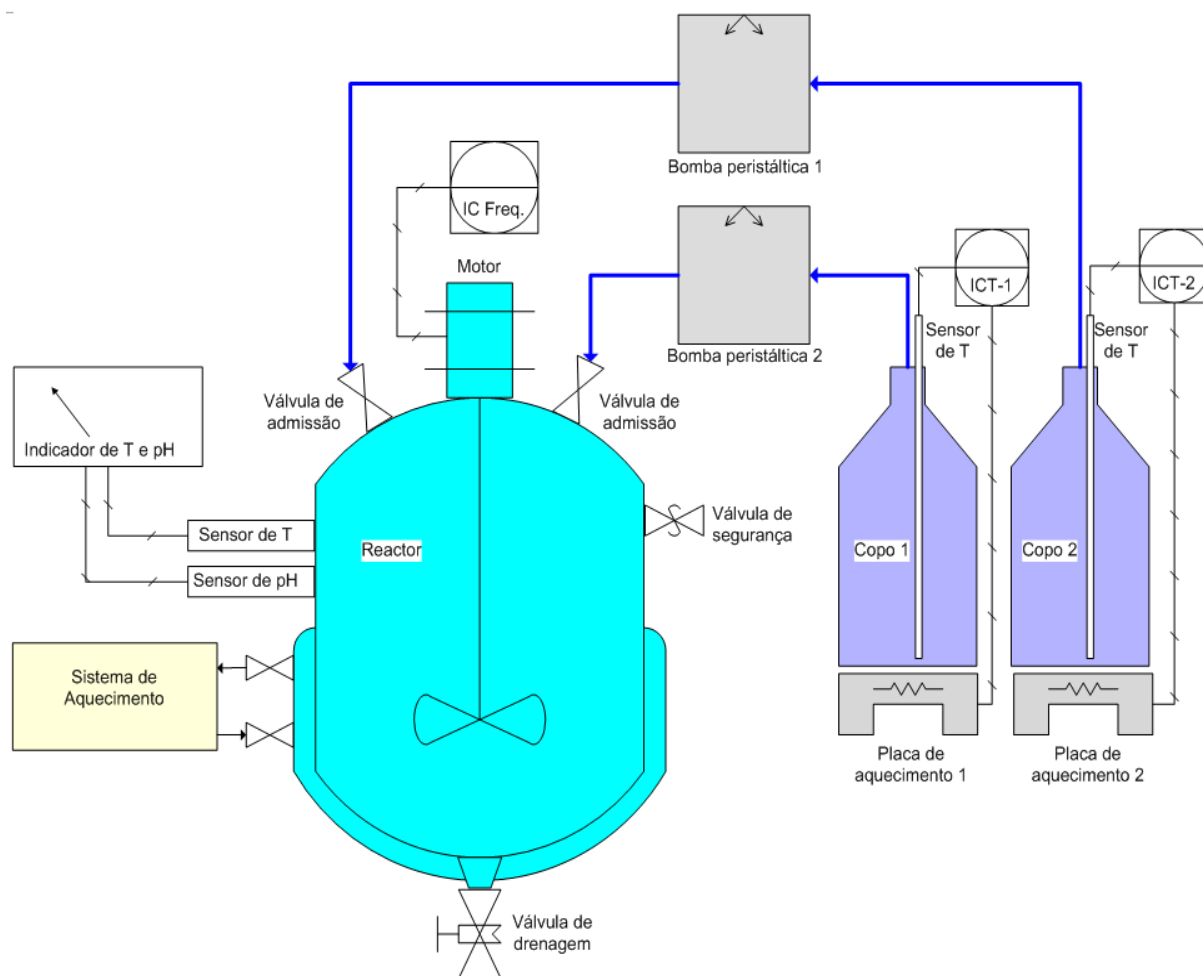
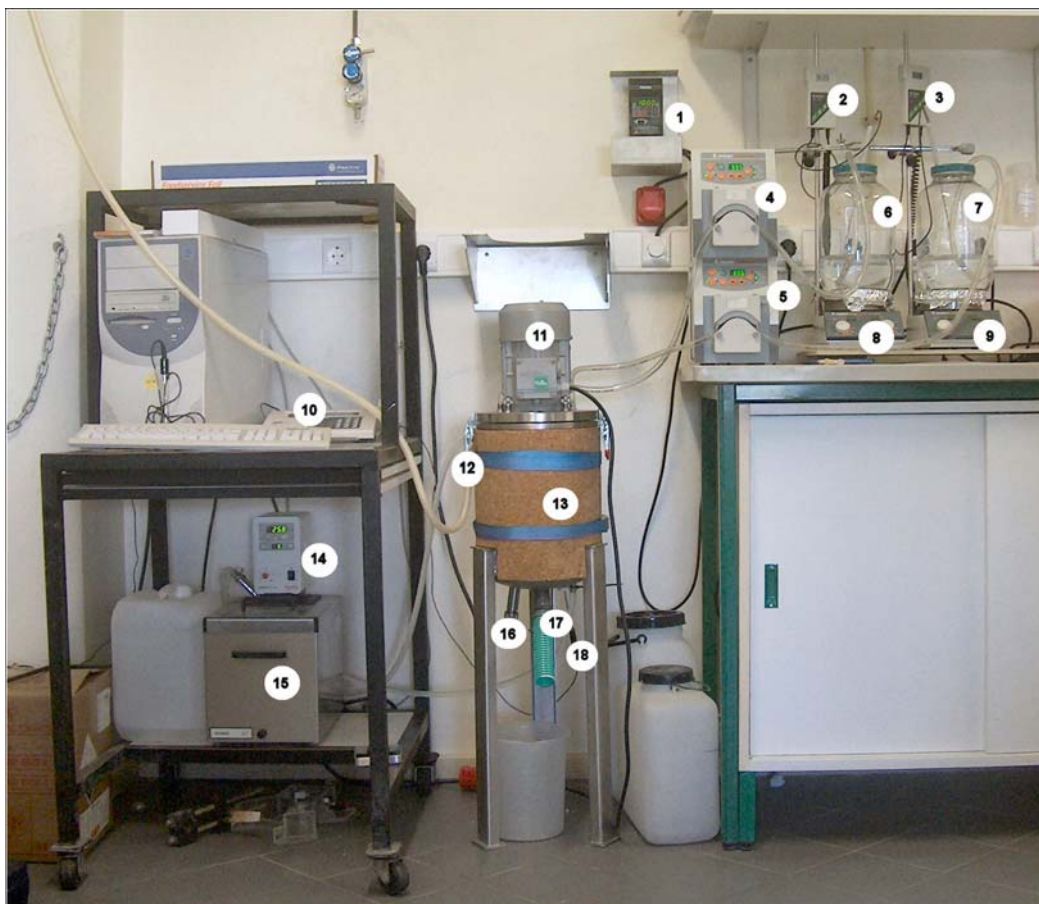


Figura 17: Esquema do aparato experimental associado ao reactor.

Os reagentes são admitidos por duas válvulas, estando cada uma delas ligado a um tubo de aço inoxidável, convergindo os mesmos para a zona inferior do reactor (dado ser esta a zona de maior turbulência e agitação da mistura de soluções – relacionado com o posicionamento das hélices do reactor). As soluções são bombeadas por duas bombas peristálticas (*Heidolph Pump Drive 5206*). As duas bombas são independentes e possuem exactamente as mesmas características. Para conduzir as soluções desde os copos de admissão, passando pelas bombas peristálticas até às válvulas de admissão no reactor, foram utilizados dois tubos de plástico adequados ao processo e à operação das bombas (*MasterFlex 06409-24 TYGON – Mfg by Saint-Gobain*). Realizou-se a admissão de cada uma das duas soluções de base sempre com a mesma bomba, isto é, uma bomba para a solução de nitrato de cálcio e outra para a solução de

hidrogenofosfato de amónia. Os copos de admissão encontram-se sobre placas de aquecimento com agitadores magnéticos. As placas de aquecimento encontram-se ligadas a controladores de temperatura (Figura 17).

A fotografia que se segue (Figura 18) mostra o dispositivo esquematizado na figura anterior. São apenas assinalados os elementos mais importantes do mesmo:



- | | |
|---|--|
| 1 – Indicador e controlador de frequência de agitação do reactor; | 12 – Válvula de segurança; |
| 2 e 3 – Indicadores e controladores de temperatura das placas de aquecimento; | 13 – Reactor; |
| 4 e 5 – Bombas peristálticas; | 14 – Indicador e controlador de T do sistema de aquecimento; |
| 6 e 7 – Copos de admissão das soluções ao reactor; | 15 – Sistema de aquecimento; |
| 8 e 9 – Placas de aquecimento; | 16 – Sonda de pH; |
| 10 – Indicador e registador de T e pH; | 17 – Válvula de drenagem; |
| 11 – Motor de agitação; | 18 – Sonda de T. |

Figura 18: Fotografia do reactor e equipamento auxiliar utilizado no processo de síntese de HA.

2.1.2 Síntese de HA

Para cada ensaio realizado, a fase de síntese consistiu essencialmente na pesagem dos reagentes necessários:

- Nitrato de Cálcio Tetrahidratado ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) (Sigma Aldrich Chemie-Alemanha);
- Hidrogenofosfato de Amónia ($(NH_4)_2HPO_4$) (Sigma Aldrich Chemie- Alemanha).

Após pesagem dos reagentes, foram preparadas duas soluções com água destilada e descarbonatada. Assim, para a solução de nitrato de cálcio tetrahidratado, efectuou-se a pesagem do nitrato de cálcio necessário, sendo este mesmo dissolvido em água descarbonatada. Efectuou-se de seguida a aferição do volume necessário em balão. Em seguida, colocou-se o volume aferido no copo respectivo de admissão ao reactor. Nesta fase do procedimento experimental adicionou-se à solução um volume igual de água (quando comparado com o volume de amónia adicionado à solução de hidrogenofosfato de amónia). Fez-se então a medição e ajuste de pH para o valor de 9 (Figura 19).

Para a solução de hidrogenofosfato de amónia efectuou-se a pesagem de reagente necessário, tendo-se dissolvido o mesmo em água destilada descarbonatada a uma temperatura adequada (a temperatura de reacção). Após efectuar a aferição do volume de solução num balão, este volume foi colocado no respectivo copo de admissão ao reactor. Adicionou-se amónia à solução (Figura 19).

Ambos os copos de solução foram colocados em bases de aquecimento com agitadores magnéticos, tendo-se o cuidado de manter a temperatura das soluções aproximadamente igual à temperatura de reacção no reactor (Figura 19).

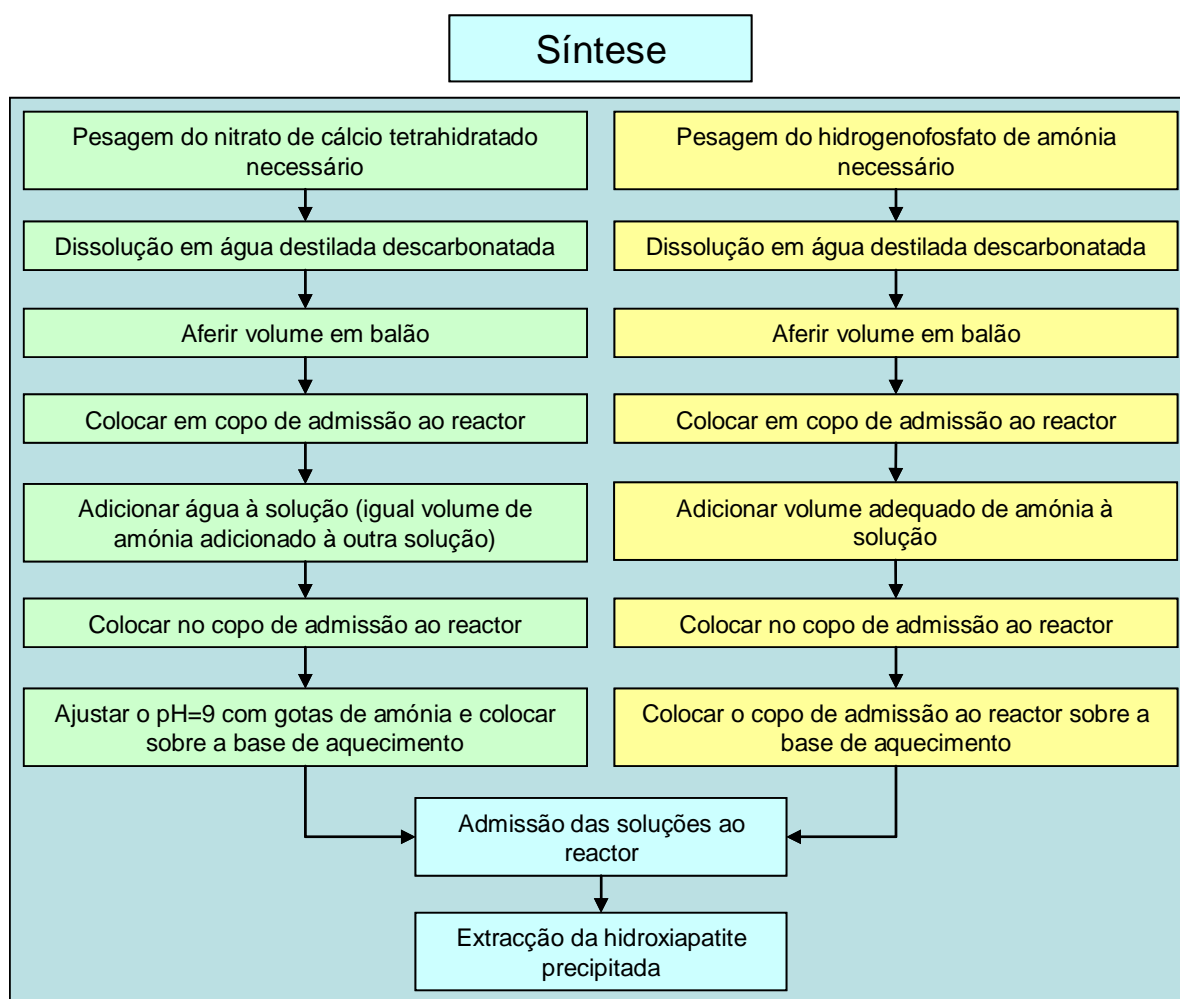


Figura 19: Processo utilizado para a síntese de HA.

A Tabela 5 resume as condições experimentais utilizadas na síntese de cada amostra. As variáveis estudadas foram a razão Ca/P, a temperatura, a concentração dos reagentes e o tempo de reacção. Para uma melhor estruturação do trabalho e simplificação da exposição dos resultados experimentais, foi definida uma nomenclatura para cada uma das amostras.

Tabela 5: Nomenclatura atribuída a cada uma das amostras mediante as condições de síntese.

Nomenclatura	Ca/P	T(°C)	[P]	t _{reacção} (h)
A90	1,67	90	0,6	0
A91				1
A93				3
A95				5
B60	1,68	60	0,6	0
B61				1
B63				3
B65				5
B70		70	0,6	0
B71				1
B73				3
B75				5
B70-4x		90	2,4	0
B90			0,6	0
B91				1
B93				3
B95				5
B90-2x			1,2	0
B91-2x				1
B93-2x				3
B90-4x				0
B91-4x			2,4	1
B93-4x				3
C90	1,69	90	0,6	0
C91				1
C93				3
C95				5
D90	1,70	90	0,6	0
D91				1
D93				3
D95				5
E90	1,8	90	0,6	0
E91				1
E93				3
E95				5

A nomenclatura das amostras é constituída por 1 letra que representa a razão Ca/P (A=1,67; B=1,68; C=1,69; D=1,70 e E=1,80) e 2 dígitos. O primeiro dígito indica a temperatura do reactor em dezenas de graus centígrados, e o segundo dígito diz respeito ao tempo (em horas) de agitação/envelhecimento dos precipitados.

2.1.3 Síntese de HA na presença de um agente superficialmente activo

A obtenção de suspensões estáveis de partículas nanométricas para o processamento coloidal ou para outras aplicações constitui um dos grandes desafios, tendo sido tentada nesta parte do trabalho de investigação. O objectivo é criar condições que promovam forças repulsivas entre as partículas acabadas de precipitar de modo a evitar a formação de aglomerados de grandes dimensões. Para o efeito adicionaram-se diferentes quantidades de um agente superficialmente activo (ASA-**ÁgoraMat**, Portugal) e avaliou-se o seu efeito na estabilização *in situ* de pós de fosfatos de cálcio.

O agente superficialmente activo era adicionado às soluções de partida e o pH no interior do reactor era ajustado para valores próximos de 7 através da adição de amónia (Sigma Aldrich Chemie- Alemanha).

A Tabela 6 apresenta as condições experimentais usadas neste estudo. Embora se tenham recolhido várias amostras do precipitado ao longo do tempo, apenas os resultados correspondentes às 2 h de reacção serão apresentados.

Tabela 6: Nomenclatura das amostras e respectiva concentração em fósforo (P), percentagem em peso (wt.%) de ASA e tipo de lavagem.

Amostras	Nomenclatura	[P] (M)	ASA (wt. %)	Tipo de lavagem
B70	A	0,6	-	Água
B70-4x	B	2,4	-	Água
B70-4x-0,5ASA	C_A	2,4	0,5	Água
	C_{ASA}			ASA
B70-4x-2ASA	D_A	2,4	2,0	Água
	D_{ASA}			ASA

Os precipitados foram separados da solução mãe através de filtração sob vácuo parcial, sendo uma parte lavada com água destilada e a outra lavada com uma solução do ASA de concentração igual à adoptada no ensaio de precipitação. Os pós assim obtidos foram usados para preparar suspensões com uma concentração volúmica de sólidos de 25%, e as

propriedades de reológicas das suspensões foram caracterizadas num reómetro (Bohlin Instruments, USA).

Os pós precipitados foram química e fisicamente caracterizados através de DRX, distribuição de tamanhos de partículas e SEM.

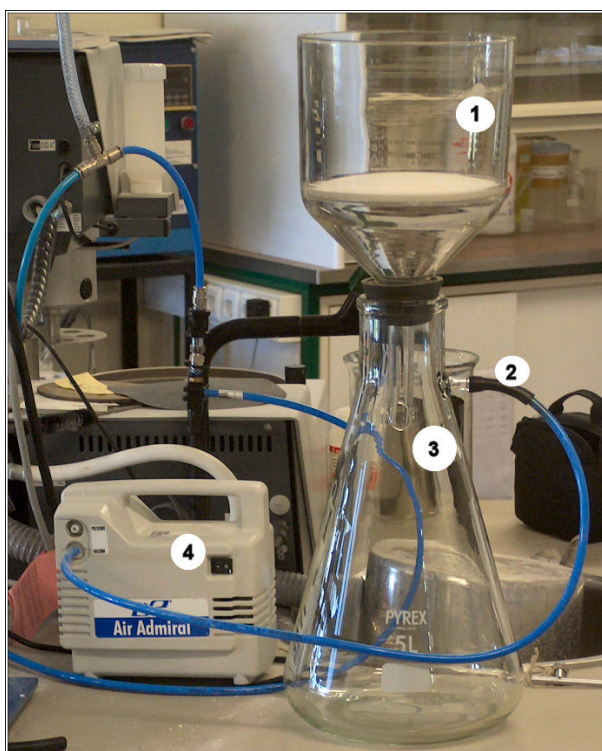
2.2 Preparação de pós para caracterização

Após a precipitação, as suspensões dos precipitados são descarregadas do reactor através da válvula de drenagem, sendo o precipitado colhido em recipiente adequado para o efeito. De seguida procede-se à separação dos sólidos por filtração sob vácuo, seguida de três

lavagens consecutivas do precipitado. A separação dos sólidos após precipitação e lavagem era feita com auxílio de um filtro de vidro ligado a um balão de Kitasato que por sua vez se encontrava ligado a uma bomba de vácuo. Realizaram-se lavagens dos pós extraídos do reactor.

Os pós lavados eram depois secos a 80°C durante 24 horas em estufa (Ecocell - MMM Medcenter). Após a secagem o pó foi sujeito a um processo de desagregação, tendo-se em seguida procedido à sua colocação em cadinhos de alumina e procedido à sua calcinação a 900°.

A Figura 20 mostra o dispositivo montado para efectuar a separação e lavagem dos pós.



- 1 – Filtro de vidro
- 2 – Tubo de vácuo
- 3 – Balão de Kitasato
- 4 – Bomba de vácuo.

Figura 20: Dispositivo de lavagem do pó precipitado.

Para realizar a calcinação das amostras utilizou-se um forno (*Termolab com um controlador de temperatura Shimaden SR53P*) (Figura 21). As amostras em cadinho de alumina foram então colocadas no forno e foram sujeitas a um ciclo térmico. O ciclo térmico utilizado divide-se em 3 zonas. Uma primeira zona de aquecimento (com uma taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$), desde a temperatura ambiente até à temperatura de 900°C . Uma segunda zona correspondente a um patamar de 1h a 900°C . A terceira zona caracteriza-se por um arrefecimento livre, desde a temperatura de 900°C até à temperatura ambiente.



Figura 21: Forno de calcinação do pó.

2.3 Caracterização dos pós

A caracterização das amostras foi realizada com vista a contemplar três pontos. Os pontos contemplados foram:

- Identificação de fases (DRX) e grupos funcionais (FTIR, Raman);
- Caracterização Morfológica (SEM, TEM e Coulter);
- Caracterização reológica.

2.3.1 Identificação de fases e grupos funcionais

A identificação de fases foi feita recorrendo a três técnicas de caracterização física:

- Difracção de Raio-X (DRX) (Figura 22)
- Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR – “*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*”)
- Espectroscopia Raman

Os difractogramas dos pós de hidroxiapatite foram obtidos num difractómetro de raios X de marca Rigaku Geigerflex Dmax-C. Este difractómetro encontra-se equipado com um monocromador curvo de grafite, utilizando radiação $\text{CuK}\alpha$.

As amostras para FTIR foram preparadas por moagem num almofariz de ágata de misturas de cada um dos pós com Brometo de Potássio numa proporção de cerca de 1 para 150. As misturas assim obtidas eram depois colocadas num molde adequado e foi sujeitas a prensagem durante um período aproximadamente de 2 minutos sob uma carga de 9 toneladas.

Para realizar a espectroscopia Raman utilizou-se um Bruker RFS 100/S. As amostras para Raman foram previamente desaglomeradas em almofariz de ágata. Efectuou-se então uma espectrofotometria Raman para cada uma das amostras, tendo sido realizados 100 varrimentos para cada amostra.



Figura 22: Equipamento de DRX utilizado na identificação de fases.

2.3.2 Caracterização Morfológica

A caracterização morfológica foi feita recorrendo às técnicas:

- Microscopia Electrónica de Transmissão (TEM);
- Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM);
- Analisador de distribuição de tamanho de partícula.

Para TEM seleccionaram-se algumas das amostras referidas na Tabela 5 (A95, D95 e E95) numa tentativa de avaliar eventuais efeitos da razão cálcio/fósforo. Para preparar os pós procedeu-se do seguinte modo: colocou-se uma pequena quantidade de pó num copo ao qual se juntou álcool etílico (96%). A suspensão foi sujeita a ultrasons durante algum tempo para permitir a desaglomeração do pó. Em seguida, mergulhou-se a grelha de cobre (para observação em TEM), retirou-se rapidamente e deixou-se secar (dando tempo ao álcool de se evaporar, ficando apenas o material desejado). Este procedimento foi repetido para cada uma das amostras. Em seguida, as três grelhas foram colocadas num excicador durante algum tempo para retirar alguma humidade existente, ficando prontas para a observação e registo fotográfico utilizando TEM (Hitachi H-9000).

Para o SEM prepararam-se algumas amostras (B70, B70-4x, B70-4x-0,5ASA, B70-4x-2ASA, A90, A95, B91, B93, C90, C5, D90, D95, E90, E95 – Tabela 5 e Tabela 6). O procedimento para preparação de amostras em SEM foi: colocou-se uma pequena quantidade de pó num copo ao qual se juntou água destilada. Esta suspensão foi sujeita a ultrasons durante algum tempo para permitir a desaglomeração do pó. Retirou-se uma pequena quantidade de suspensão e colocou-se sobre uma lamela que foi então colocada sob um porta amostras adequado para SEM. Todas as amostras foram então colocadas durante 24 horas numa mufla para secar. Após retirar as amostras da mufla e antes de as sujeitar à deposição de ouro (Polaron SEM Coating Unit E5000), foram colocadas num excicador. Foi então realizada a observação e registo fotográfico em SEM (Hitachi S4100).

Para obter as distribuições de tamanho de partícula (Coulter) seleccionaram-se as amostras referidas na Tabela 6 (B70, B70-4x, B70-4x-0,5ASA, B70-4x-2ASA) com o objectivo de

avaliar eventuais efeitos da concentração de reagentes e do agente superficialmente activo. Para cada amostra procedeu-se da seguinte forma: colocou-se num copo uma pequena quantidade de pó e água destilada. Agitou-se para obter uma suspensão e colocou-se em ultrasons durante algum tempo. O analisador de distribuição de tamanho de partículas (COULTER LS Particle Analyser LS 230) foi utilizado para obter as distribuições.

2.3.3 Caracterização Reológica

O estudo reológico foi apenas realizado às amostras que constam da Tabela 6 (B70, B70-4x, B70-4x-0,5ASA, B70-4x-2ASA). Para cada uma destas amostras procedeu-se da seguinte forma: avaliou-se a percentagem de humidade no bolo após a filtração e em seguida, adicionou-se a água necessária de modo a obter uma suspensão com 25% em volume de sólidos, tendo-se utilizado para o efeito um turbodiluidor (IKA Labortechnik RW20.n). Em seguida, realizou-se o ensaio reológico utilizando um reómetro (Bohlin Instruments, High Resolution C-VOR Torque Rebalance) numa configuração geométrica cone e prato (ângulo do cone: 4°, diâmetro do cone: 40mm e *gap* - 150µm).

3 Resultados e Discussão

3.1 Pós por calcinar

3.1.1 Difracção de Raio X

Os padrões de DRX para as composições seleccionadas em se variou a razão Ca/P estão apresentados na Figura 23. Todos os padrões de DRX obtidos indicaram a formação de fase de HA que difere somente na largura dos picos bem como na intensidade absoluta dos mesmos.

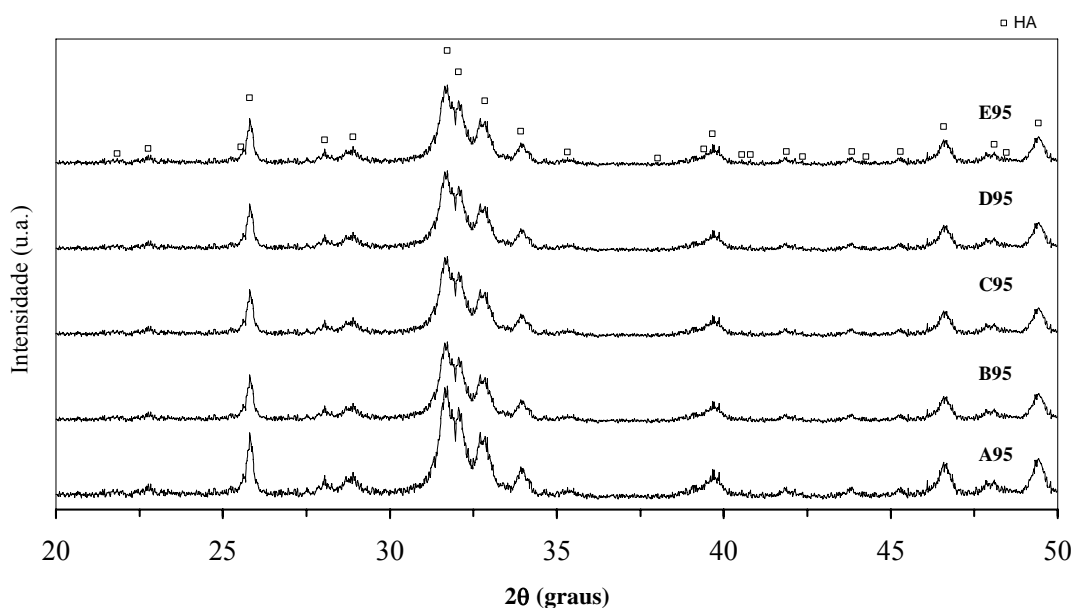


Figura 23: Padrões de DRX dos pós precipitados.

Relativamente ao efeito da variação da razão Ca/P dos precursores, pode verificar-se que todos os pós indicaram picos característicos da fase HA, mas os espectros de DRX das amostras com valores crescentes da razão Ca/P ($> 1,67$), que podem ser denominados por não estequiométricos, apresentam picos relativamente mais largos, evidenciando assim um grau de cristalinidade mais baixo quando comparados com o pó estequiométrico A95. Esta

evolução é perfeitamente compreensível, uma vez que o número de defeitos na rede cristalina deverá aumentar com o afastamento das condições estequiométricas. Contudo, as diferenças observadas são pouco expressivas, podendo concluir-se que a variação da razão molar Ca/P no intervalo estudado não mostrou afectar de forma significativa os espectros de DRX dos pós preparados. Deve notar-se que os espectros de DRX de pós de fosfatos de cálcio precipitados em estudos anteriores [66,67] nos quais a razão Ca/P variou numa gama mais alargada resultaram em padrões semelhantes aos da hidroxiapatite, apesar da razão molar Ca/P ser maior ou menor que a razão estequiométrica, isto é, maior ou menor que $\text{Ca/P}=1,67$.

3.1.2 Espectros FTIR

Os espectros de FTIR das composições seleccionadas estão apresentados na Figura 24.

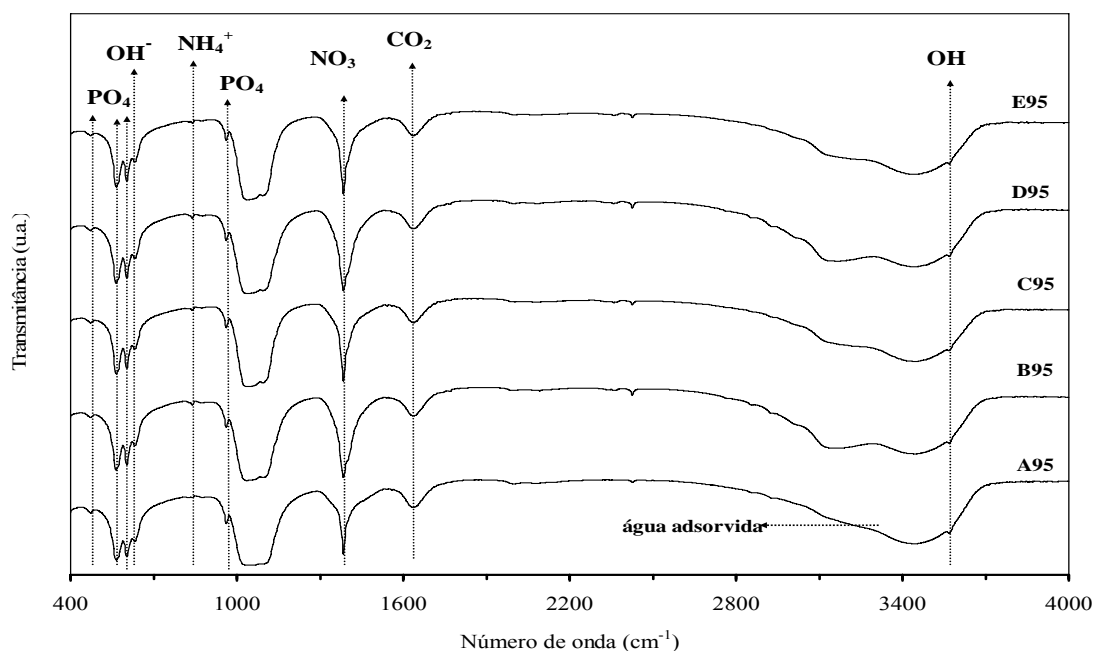


Figura 24: Espectros de FTIR para as composições seleccionadas (antes de calcinar).

Os espectros da Figura 24 corroboram os resultados de DRX, confirmando, portanto a formação de HA para todos os pós. Com efeito, podem observar-se os modos fundamentais

de vibração do grupo PO_4 a 475, 574, 609, 966 e 1020-1120 cm^{-1} . A presença de bandas a 630 e 3570 cm^{-1} podem ser atribuídas à presença do grupo OH da fase HA. Contudo, torna-se difícil explicar o papel da variação da razão Ca/P dos pós preparados uma vez que as fases resultantes exibem uma baixa cristalinidade, como se pode concluir a partir da Figura 23. Assim, torna-se necessário um tratamento térmico com o objectivo de melhorar a cristalinidade para uma melhor caracterização. De facto, os espectros de FTIR tendem a coincidir com os resultados da difracção de DRX. Com efeito, do mesmo modo que a resolução dos picos de DRX tende a baixar, também as bandas FTIR dos grupos OH e PO_4 são observadas com menor intensidade quando comparados com os do pó estequiométrico, que possui razão molar Ca/P = 1,67. A presença de água adsorvida pode também ser detectada a partir dos espectros de FTIR na região dos 3300-3600 cm^{-1} . Outra informação que se pode concluir dos espectros de FTIR é a presença de grupos carbonato (CO_3) a 1660 cm^{-1} , que se pode ficar a dever à presença de espécies remanescentes adsorvidas durante a precipitação [68].

A presença de nitratos (NO_3) nos pós precipitados é evidente, sendo testemunhada pelas bandas do espectro FTIR nas proximidades da região 1320-1480 cm^{-1} . A presença de nitratos (1320-1480 cm^{-1}) e iões residuais de NH_4^+ (875 cm^{-1}) nos pós sintetizados são concordantes com observações realizadas em estudos anteriores [69].

3.2 Efeito da Calcinação/Tratamento Térmico

3.2.1 Difracção de raio X (DRX)

Os padrões de DRX dos pós sintetizados após tratamento térmico a 900°C estão apresentados nas Figura 25 à 29 e a Tabela 7 apresenta um resumo das fases detectadas em cada uma das amostras.

Nas Figuras 25 a 29 torna-se aparente que os efeitos do tempo de agitação/envelhecimento e da razão Ca/P dos precursores apresenta uma grande influência no grau de cristalinidade

da HA. Dos valores das Figuras 25 à 29 torna-se evidente que a fase de HA foi detectada em todas as condições testadas, enquanto que traços de β -TCP só foram detectados na amostra A90. É também importante notar que existe uma diferença significativa na cristalinidade das fases resultantes, observando-se um decréscimo aparente com o aumento do tempo de agitação. Estes resultados são à primeira vista surpreendentes, uma vez que se esperaria que a cristalinidade fosse favorecida com o aumento do tempo de envelhecimento. Para compreender estes resultados deve ter-se em consideração que as suspensões descarregadas do reactor eram deixadas sedimentar durante algum tempo, o sobrenadante era retirado e se juntava água desionizada e descarbonatada com o intuito de promover alguma lavagem do precipitado. Não tendo havido o cuidado de ajustar o pH da água de lavagem para um valor semelhante ao do sobrenadante, isto significa que se criaram condições favoráveis a uma certa dissolução do pó e sua eventual reprecipitação à temperatura ambiente, pelo que o grau de cristalinidade deverá ser inferior, tal como observado. Estes resultados foram confirmados através da determinação dos parâmetros de rede, os quais serão apresentados e discutidos posteriormente numa secção separada. Alguns estudos [70,71,72] provaram a influência de vários factores tais como as condições de precipitação, concentração e ordem de adição dos reagentes, existência de impurezas nos reagentes, pH da solução e temperatura de reacção nas características dos precipitados, sendo o pH um dos factores mais relevantes. Foi ainda referido [73,74,75] que a agitação permanente e envelhecimento, levados a cargo após a junção dos reagentes, permite assegurar a incorporação gradual de cálcio na estrutura apatítica, permitindo que o material se aproxime da razão Ca/P estequiométrica. Estas observações reforçam a interpretação dada acima para a aparente diminuição do grau de cristalinidade com o tempo de envelhecimento, sendo que os efeitos registados se podem atribuir ao abaixamento do pH resultante da adição da água de lavagem.

Tabela 7: As fases detectadas para condições diferentes de reacção após calcinação a 900°C.

Amostra	Fases detectadas após calcinação a 900°C		
	HA	β -TCP	CaO
A90	√	√	×
A91	√	×	×
A93	√	×	×
A95	√	×	×
B90	√	×	×
B91	√	×	×
B93	√	×	×
B95	√	×	×
C90	√	×	×
C91	√	×	×
C93	√	×	×
C95	√	×	×
D90	√	×	×
D91	√	×	×
D93	√	×	×
D95	√	×	×
E90	√	×	√
E91	√	×	×
E93	√	×	×
E95	√	×	×

3.2.2 Razão molar Ca/P = 1,67

Neste sistema, exceptuando a amostra A90, todas as outras composições revelaram a formação de HA pura. Isto mostra que o tempo de agitação das suspensões para o tempo $t=0$, conduziu a não estequiometria [19,76,77,78,79], originando fases de apatite deficientes em cálcio que resultaram na formação de uma mistura de fases de HA e β -TCP de acordo com a equação 1 mostrada abaixo:

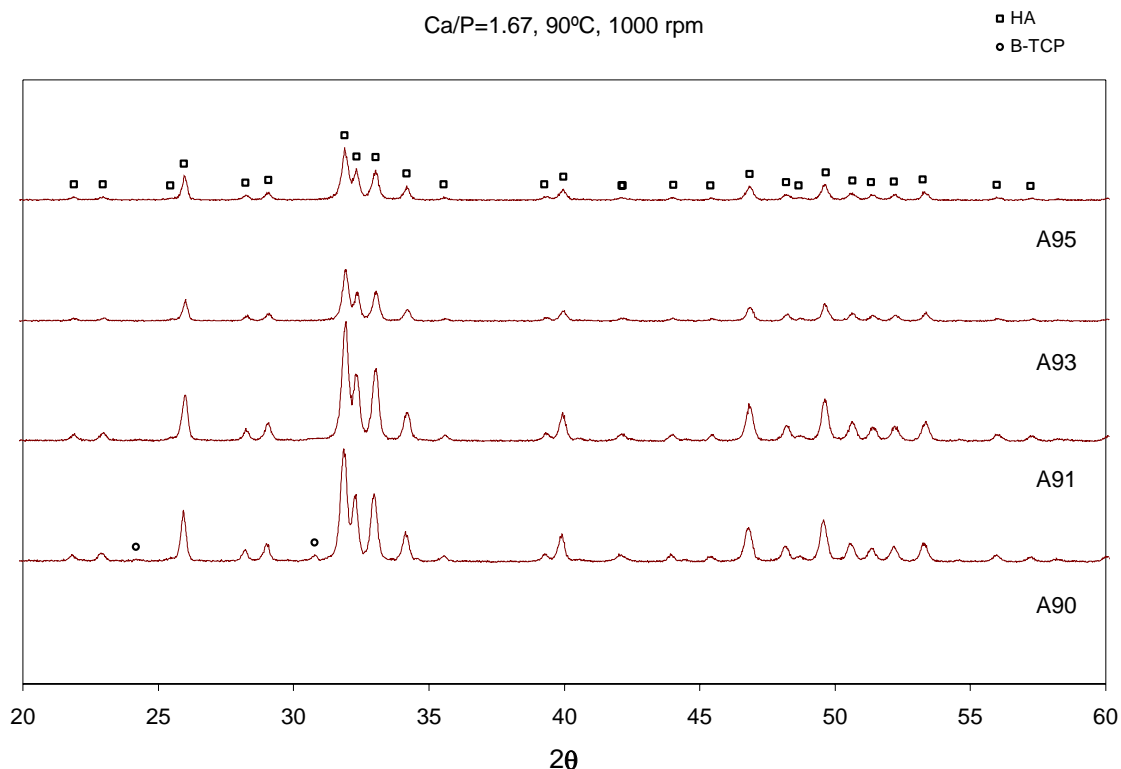
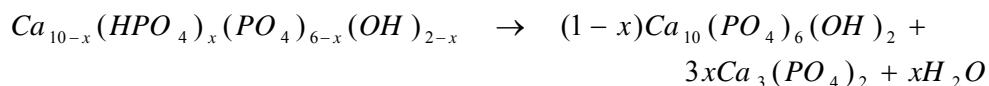


Figura 25: Série de espectros de DRX para as amostras com Ca/P=1,67 realizadas a T=90°C e com uma frequência de agitação de 16,66 Hz (ou 1000 rpm).

Para tempos de agitação superiores (1 hora, 3 horas e 5 horas, para as amostras A91, A93 e A95 respectivamente), a calcinação dos pós a 900°C conduziu à formação de HA pura, apenas apresentando algumas diferenças na cristalinidade, cuja principal origem já foi acima explicada.

3.2.3 Razão molar Ca/P = 1,68

Neste caso, os resultados mostram que a HA pura foi a única fase a ser formada independentemente da duração do período de agitação/envelhecimento. Isto pode explicar-se pela maior abundância em Ca^{2+} e, portanto, pela menor probabilidade de se formarem

fases de apatite deficientes em cálcio, as quais são as precursoras de α e β -TCP. É também conhecido que uma razão molar Ca/P=1,68, para além de originar HA pura, também lhe confere maior estabilidade térmica até temperaturas superiores 1450°C [80,81].

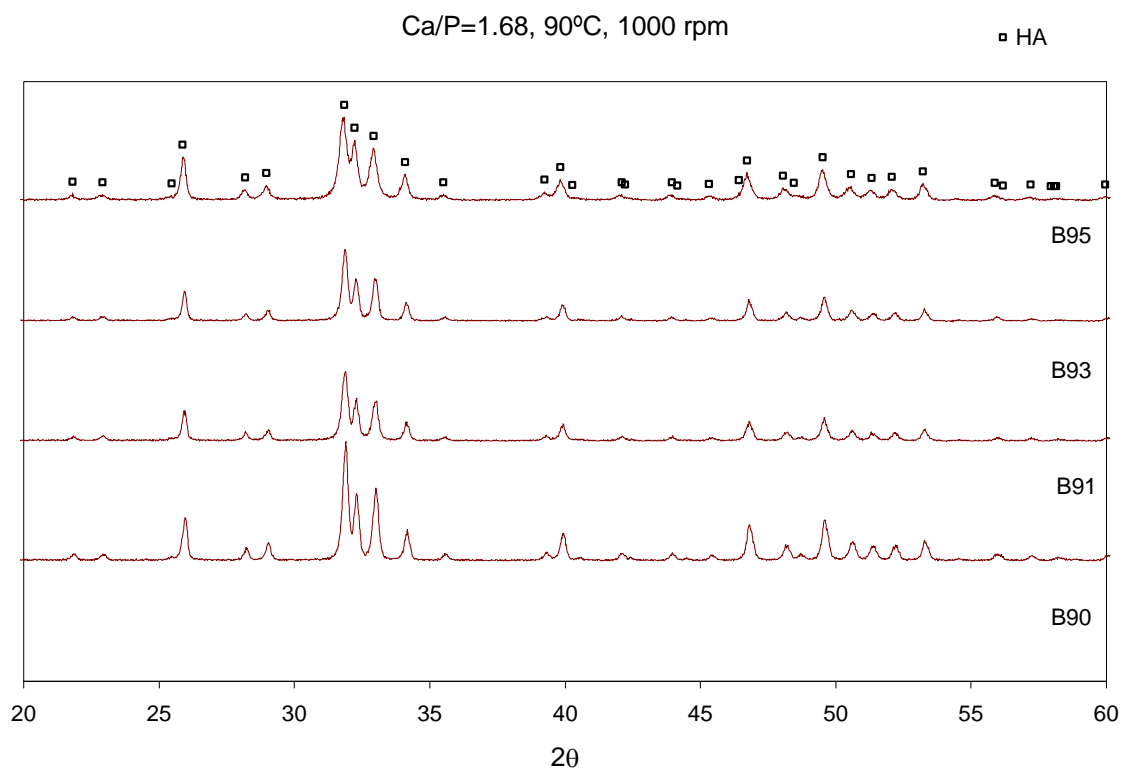


Figura 26: Série de espectros de DRX para as amostras com Ca/P=1,68 realizadas a T=90°C e com uma frequência de agitação de 16,66 Hz (ou 1000 rpm).

3.2.4 Razões molares Ca/P = 1,69; 1,70 e 1,80

Os resultados obtidos para todas as composições a partir destas razões molares, conduziram à formação de HA pura nos pós resultantes, independentemente da duração do período e agitação/envelhecimento (Figura 27 Figura 28 e Figura 29). Isto significa que quantidades vestigiais de fase β -TCP para tempo de agitação das suspensões t=0 horas só foram detectadas para a amostra obtida a partir da composição com razão molar Ca/P 1,67.

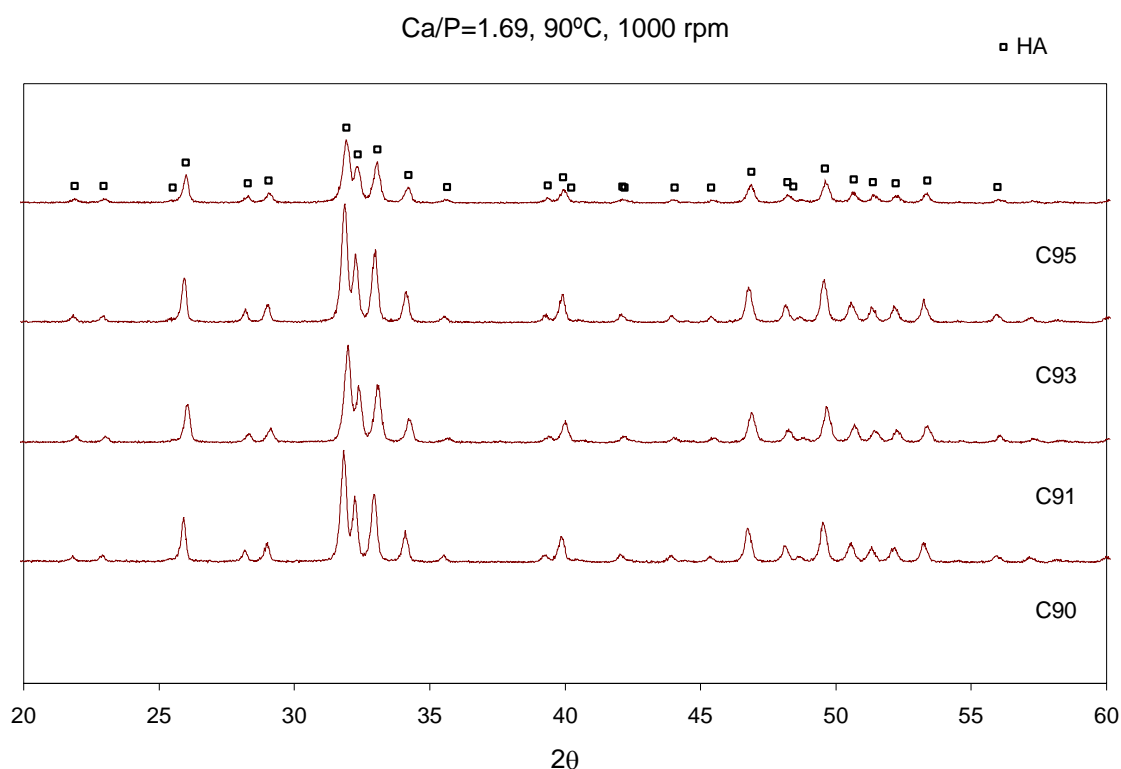


Figura 27: Série de espectros de DRX para as amostras com Ca/P=1,69 realizadas a T=90°C e com uma frequência de agitação de 16,66 Hz (ou 1000 rpm).

Verifica-se assim que um excesso de cálcio evita a formação de apatites deficientes neste elemento. Contudo, constata-se que para evitar a formação de apatites deficientes em cálcio basta usar um ligeiro excesso deste elemento.

Seria de esperar que o excesso de cálcio relativamente à estequiometria pode conduzir ao surgimento de vestígios de óxido de Cálcio (CaO) após calcinação [82,83,84]. Os resultados obtidos no presente estudo revelam que vestígios de CaO só foram detectados na amostra E90 com a razão Ca/P mais elevada e para um tempo de agitação $t=0$. Estes resultados sugerem, por um lado, que o teor de CaO formado é inferior ao limite de detecção do aparelho de DRX e, por outro lado, que o grau de homogeneidade dos precipitados aumenta com o aumento do tempo de agitação, o que não é nada surpreendente. Assim, a maior heterogeneidade do pó para $t=0$ terá sido responsável pelo CaO detectado.

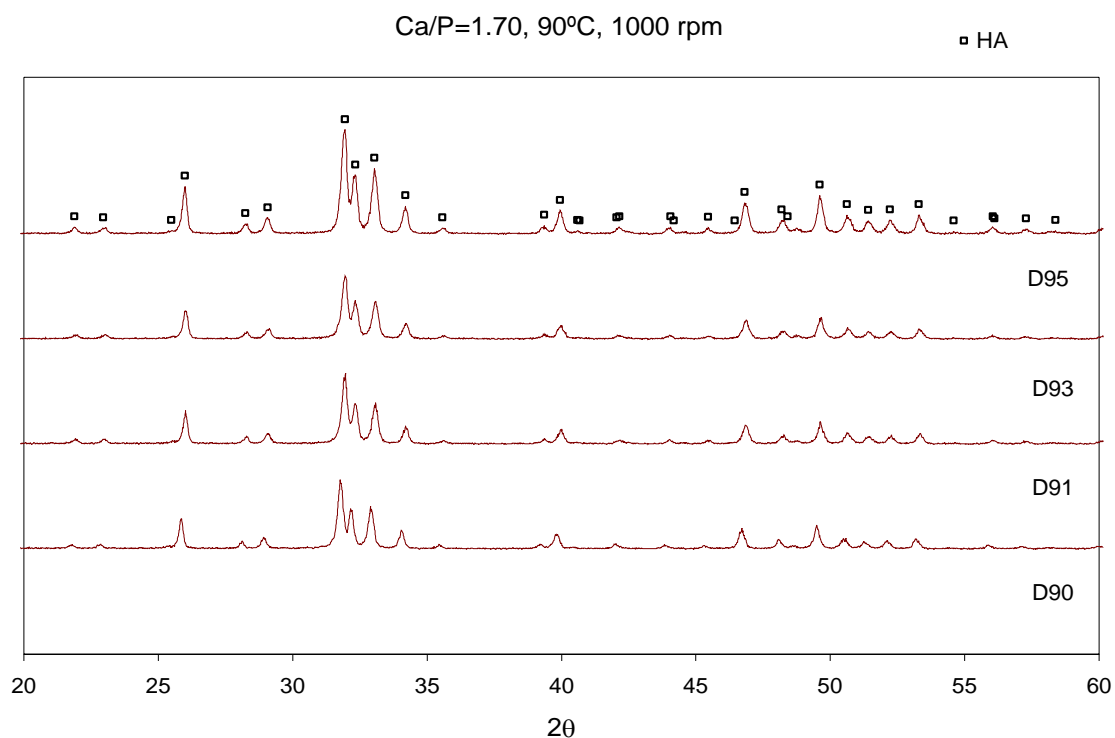


Figura 28: Série de espectros de DRX para as amostras com Ca/P=1,70 realizadas a T=90°C e com uma frequência de agitação de 16,66 Hz (ou 1000 rpm).

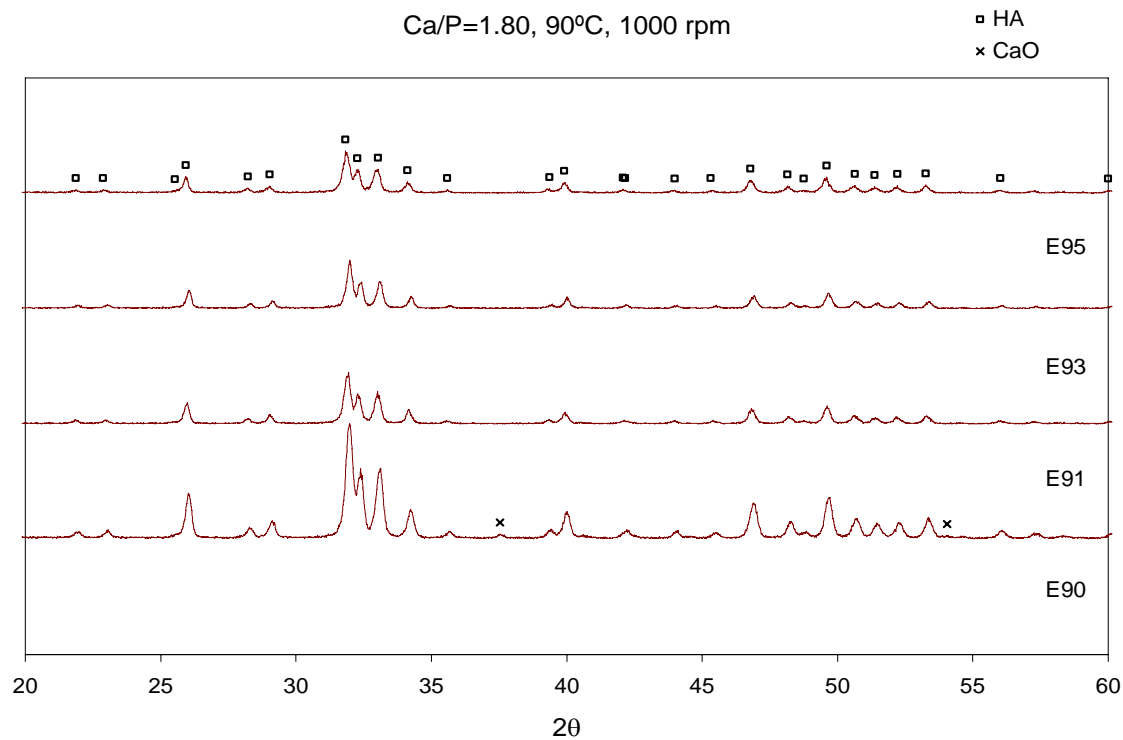


Figura 29: Série de espectros de DRX para as amostras com Ca/P=1,80 realizadas a T=90°C e com uma frequência de agitação de 16,66 Hz (ou 1000 rpm).

3.2.5 Espectro FTIR

Os espectros FTIR de todas as amostras calcinadas a 900°C em que se variou a razão Ca/P, apresentaram bandas características da fase HA.

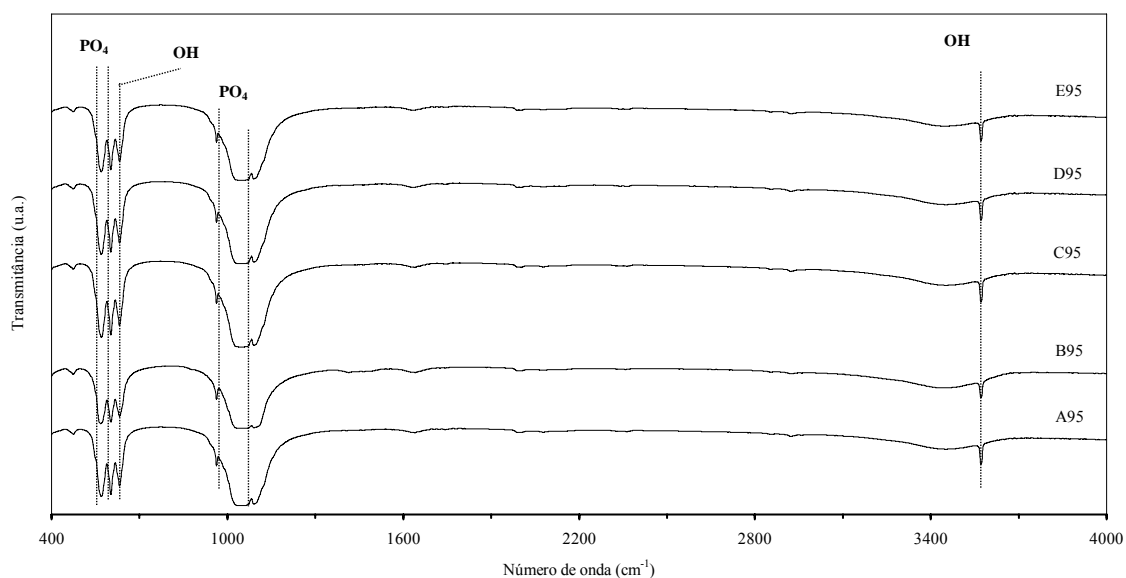


Figura 30: Espectros de FT-IR para as composições seleccionadas (após calcinação).

A Figura 30 mostra o espectro das composições seleccionadas. Infere-se a partir dos padrões de bandas existentes no espectro FTIR, a existência de iões NH_4^+ residuais e água adsorvida. Os grupos carbonato (CO_3^{2-}) desapareceram após a calcinação a 900°C, resultando na formação de fase pura de HA. As bandas devidas ao tetraedro PO_4 são visíveis a 485 cm^{-1} (O–P–O *bending* ν_2), 576 cm^{-1} (O–P–O *antisymmetric bending* ν_4), 605 cm^{-1} (O–P–O *bending* ν_4), 980 cm^{-1} (P–O *stretching* ν_1) e 1095 cm^{-1} (P–O *stretching* ν_3) [20,85].

Os modos vibracionais devidos aos grupos hidroxilo podem ser identificados pelas bandas a 630 cm^{-1} (*librational mode*) e a 3570 cm^{-1} (*stretching frequency*) no espectro FTIR [20,86].

3.2.6 Espectro Raman

O espectro Raman foi empregue para estudar os modos vibracionais da fase de HA obtida no presente estudo. Uma vez que a vantagem da espectroscopia Raman, é a possibilidade de detectar a presença de bandas características com uma resolução e sensibilidade elevadas, esta técnica permite aferir acerca da pureza da fase de HA obtida no presente estudo. Obtiveram-se espectros Raman para as amostras A90, B90, C90, D90 e E90 para avaliar o efeito da razão Ca/P e para ajudar a discernir acerca do interesse, ou não, em manter os precipitados sob agitação durante algum tempo. A Figura 31 compara todos os espectros Raman obtidos, enquanto a Figura 32 apresenta o espectro Raman ampliado da amostra A90, para uma análise mais detalhada.

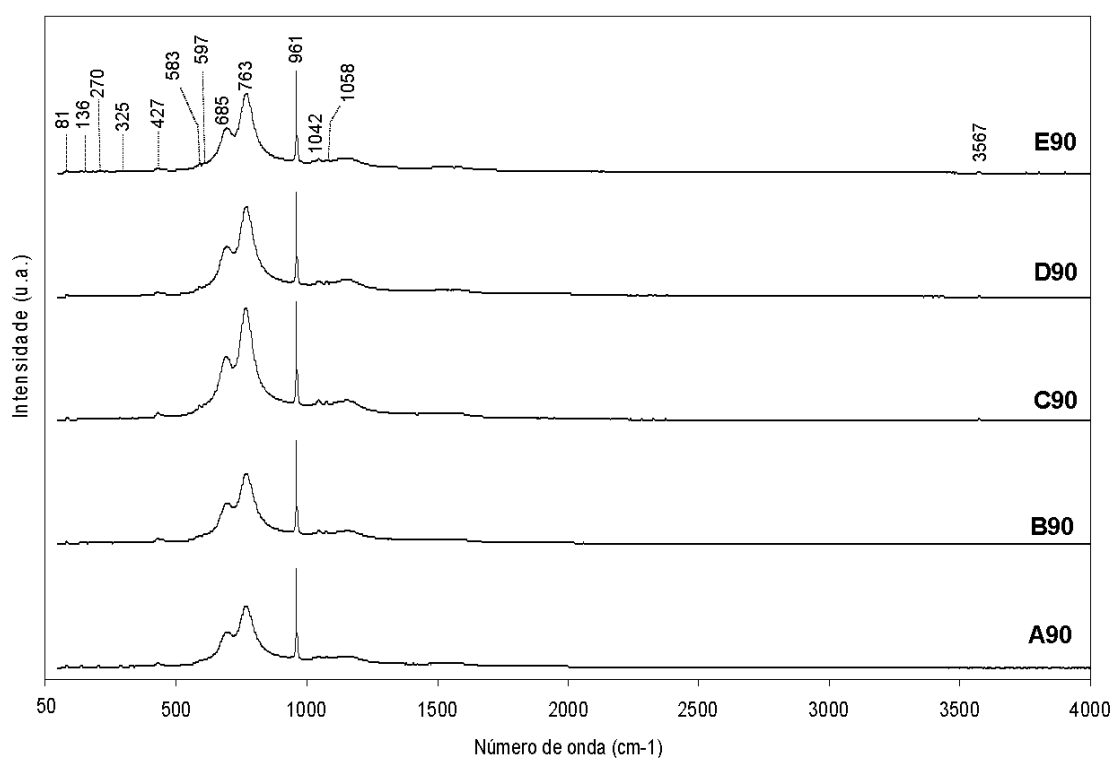


Figura 31: Espectros Raman para as amostras A90, B90, C90, D90 e E90.

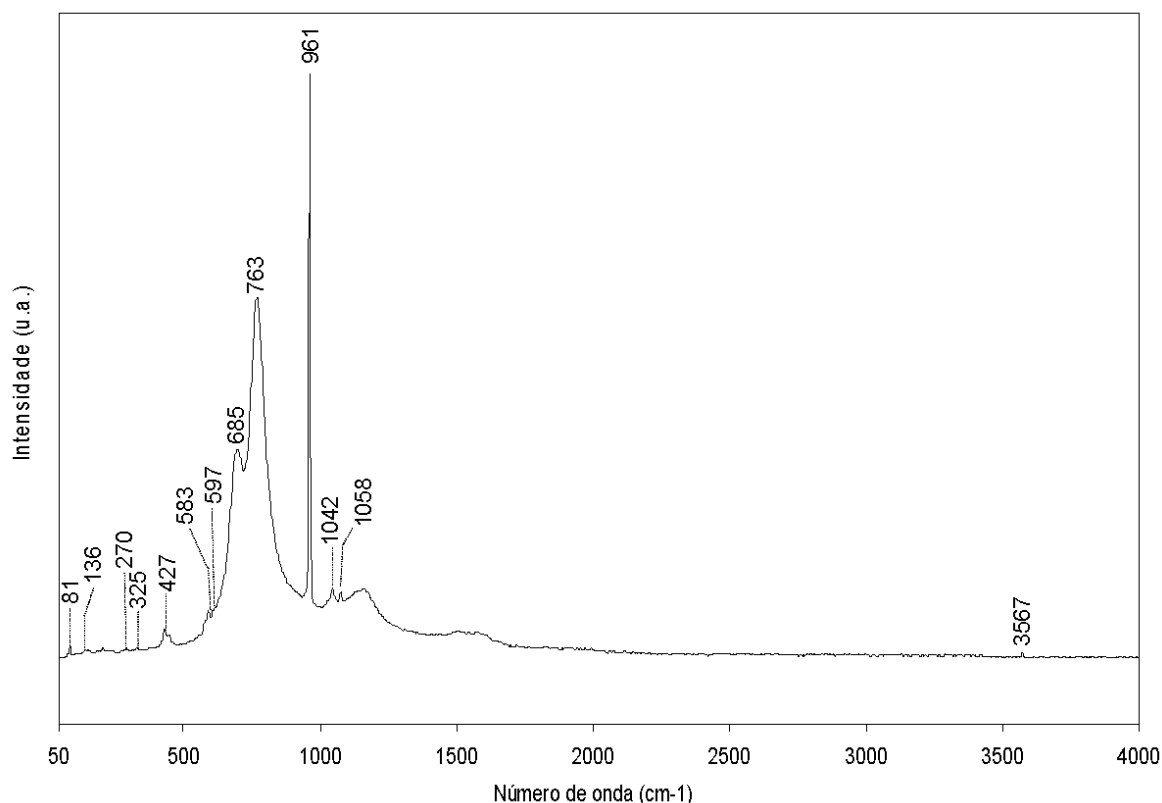


Figura 32: Espectro Raman após calcinação da amostra A90.

A Figura 32 (amostra A90) apresenta o espectro Raman obtido após calcinação a 900°C. Entre as características mais importantes, encontramos um pico amplo a $\sim 961\text{ cm}^{-1}$, correspondendo às vibrações extensionais totalmente simétricas «*totally symmetric stretch*» ν_1 do PO_4^{3-} . A posição do pico $\sim 961\text{ cm}^{-1}$ é um bom indicador do grau de cristalinidade do material. Estudos anteriores mostraram que o deslocamento deste pico para um número de onda mais baixo (955 cm^{-1}) indica um grau de amorfismo mais acentuado, parecido com o do tecido ósseo fortemente carbonatado [87,88].

Na situação presente, o pico bem definido a 961 cm^{-1} é um bom indicador da boa cristalinidade da fase de HA obtida por este método de síntese.

Para além do acima referido, podem ainda inferir-se outras informações relevantes a partir do espectro Raman, nomeadamente, a partir das seguintes bandas da HA [89,90,91]:

- (a) As bandas a 3567 cm^{-1} e 325 cm^{-1} surgem dos modos *stretching* e *translational* dos iões de OH^- , respectivamente; as bandas OH^- *librational* esperadas na região

dos 630 cm^{-1} não são detectadas com clareza, embora duas bandas tenham sido previstas pela análise do grupo de simetria [92].

(b) Os picos 1042 cm^{-1} , 1058 cm^{-1} , resultam de ν_3 do PO_4 , o pico forte a 961 cm^{-1} resulta de ν_1 do PO_4 , os picos 583 cm^{-1} , 597 cm^{-1} e 783 cm^{-1} são resultado de ν_4 do PO_4 , e o pico a 427 cm^{-1} resulta de ν_2 do PO_4 .

(c) O grupo de picos de baixa intensidade que surge no intervalo de 329 cm^{-1} a 50 cm^{-1} , resulta de translações de iões de Ca^{2+} , PO_4^{3-} , e OH^- e «*librations*» de iões de PO_4^{3-} . Os picos a 325 cm^{-1} e a 270 cm^{-1} estão associados a vibrações da sub-rede $2[(\text{Ca}_{\text{II}})_3(\text{OH})]$ da HA hexagonal. Contudo, apesar do pico a 285 cm^{-1} não se evidenciar claramente, este deve ser associado a movimentos *libratory* do grupo fosfato [93,94].

3.2.7 Parâmetros estruturais

Um vez que o principal objectivo do presente estudo é obter fases puras de HA, os parâmetros estruturais foram apenas medidos para as amostras em que foi detectada a presença de fase pura de HA.

As constantes de rede foram determinadas por refinamento (*least square refinements*) das posições correspondentes às reflexões mais intensas, tendo sido utilizado o software MDI Jade 6.1. Para este efeito, foram utilizados os planos de reflexão (002) e (300) da fase de HA.

O volume V da célula unitária hexagonal foi determinado utilizando a seguinte fórmula:

$$V = 2.589 \times a^2 \times c.$$

Os resultados presentes na Tabela 8 confirmaram a presença de HA hexagonal para todas as composições, tendo os resultados apresentado pequenos desvios, com um erro inferior a 0,5% relativamente aos valores da fase padrão (ICDD PDF 09-432) da HA.

Tabela 8: Parâmetros de rede calculados a partir da fase de HA após calcinação a 900°C.

Amostra	Parâmetros de rede		
	<i>eixo-a</i> (Å)	<i>eixo-c</i> (Å)	Volume (Å)
HAP ICDD PDF # 09-0432	9,418	6,884	1586,3
A91	9,4022	6,8736	1573,16
A93	9,4156	6,8591	1574,32
A95	9,4055	6,8484	1568,50
B91	9,3919	6,9053	1576,96
B93	9,4107	6,8640	1573,81
B95	9,4103	6,8435	1568,97
C90	9,4183	6,8288	1568,27
C91	9,4183	6,8288	1568,27
C93	9,4220	6,8534	1575,15
C95	9,4086	6,8640	1573,11
D90	9,4050	6,8635	1571,79
D91	9,4172	6,8237	1566,73
D93	9,4218	6,8446	1573,07
D95	9,4022	6,8364	1564,65
E90	9,4081	6,8788	1576,33
B91	9,4219	6,8255	1568,71
B93	9,4195	6,8342	1569,91
B95	9,4223	6,8377	1571,65

3.2.8 Tamanho de Cristalite

O tamanho médio das cristalites de HA foi determinado a partir dos DRX realizados, tendo-se utilizado a aproximação de Scherrer [95]. Utilizaram-se os valores da largura dos picos a meia altura da intensidade ($h_{1/2}$) do pico correspondente ao plano (002), representativo das cristalites ao longo do eixo-c, e o pico correspondente ao plano (300),

representativo das cristalites ao longo do eixo-a, para efectuar os cálculos de acordo com a equação:

$$d = \frac{k\lambda}{h_{1/2} \cos(\theta)}$$

onde d representa o tamanho médio da cristalite, calculado de acordo com a reflexão (hkl), λ é o comprimento de onda da radiação CuK_a (0,15406 nm), e k é a constante de alargamento (variando com o hábito do cristal na gama 0,87-1,0) que tem neste caso (cristalites de HA) tem uma razão de aspecto relativamente baixa pelo que se adoptou o valor de 0,9 [96].

Os valores de tamanho de cristalite obtidos do plano (002), denominados X_{002} , e do plano (300), denominados X_{300} , são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Tamanho de cristalite calculado do plano 002 (*eixo-c*) e plano 300 (*eixo-a*) para as diferentes reacções e após a calcinação dos pós a 900°C.

Amostra	Tamanho de cristalite (nm)		
	Plano X_{002}	Plano X_{300}	Razão X_{002}/X_{300}
A91	45,3	36,0	1,258
A93	33,1	32,4	1,022
A95	43,0	34,2	1,257
B91	41,5	34,1	1,217
B93	43,4	38,0	1,142
B95	38,2	27,0	1,415
C90	40,4	36,5	1,107
C91	33,8	32,3	1,046
C93	42,4	39,3	1,079
C95	34,4	33,1	1,039
D90	40,1	35,2	1,139
D91	41,8	37,6	1,111
D93	39,7	33,8	1,174
D95	33,5	31,7	1,057
E90	32,8	31,2	1,051
E91	40,7	37,6	1,082
E93	39,4	32,5	1,212
E95	36,2	29,0	1,248

A razão de aspecto média X_{002}/X_{300} para todos os pós é também apresentada na Tabela 9. Por observação da Tabela 9, torna-se evidente que os valores calculados não ultrapassam os 50 nm de tamanho, assim sendo, apresentando uma excelente compatibilidade com o tamanho de cristalite da HA encontrada nos ossos [97,98]. Concluiu-se também que, todas as fases de HA resultantes do presente trabalho, indicaram uma razão de aspecto superior a 1. Isto mostra que as cristalites encontram-se orientadas preferencialmente ao longo do eixo-*c* em detrimento do eixo-*a*.

3.3 Microscopia Electrónica de Transmissão (TEM)

Nas Figuras 33, 34 e 35 apresentam-se micrografias TEM para as três amostras seleccionadas, respectivamente, A95, D95 e E95 (Tabela 5). As micrografias TEM foram digitalizadas com um digitalizador apropriado para o efeito, a partir dos negativos obtidos durante a sessão de TEM.

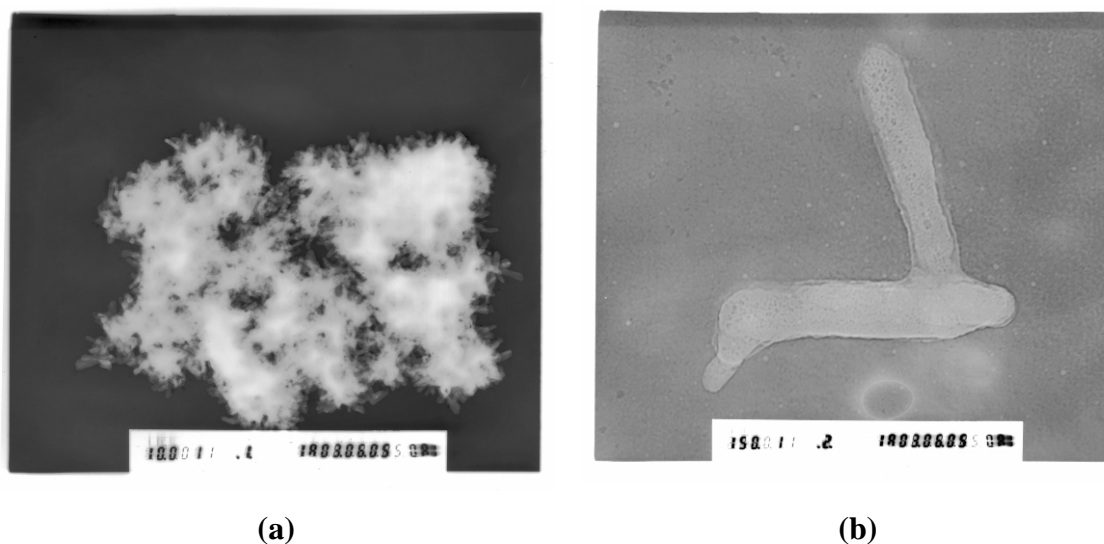


Figura 33: Micrografia de TEM da amostra A95: (a) Agregados de cristais de HA com uma ampliação de 10 000x; (b) dois cristais de HA observados com uma ampliação de 150 000x.

A Figura 33 mostra as micrografias obtidas para a amostra A95. A partir da micrografia Figura 33-(a), constata-se que o hábito dos cristais assume a forma de agulhas de

dimensões nanométricas. Constata-se ainda a tendência para a formação de aglomerados (Figura 32-(a)) e que existe uma ligação forte entre as cristalites primárias (Figura 33-(b)).

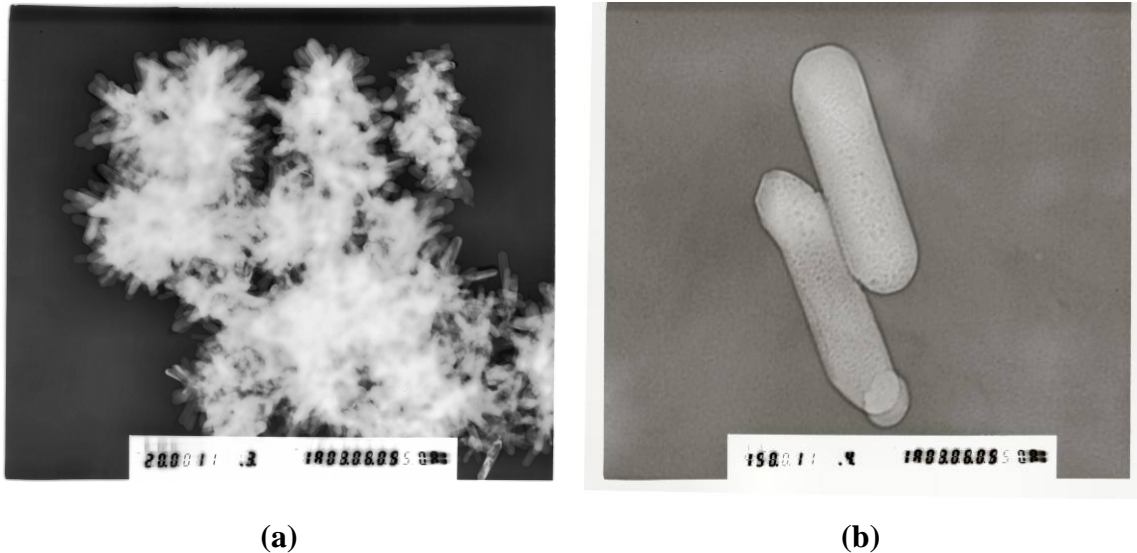


Figura 34: Micrografia de TEM da amostra D95: (a) Agregados de cristais de HA com uma ampliação de 20 000x; (b) dois cristais de HA observados com uma ampliação de 150 000x.

A Figura 34 mostra as micrografias obtidas para a amostra D95. A partir da micrografia Figura 34-(a), constata-se que o hábito dos cristais (analogamente em A95) assume a forma de agulhas de dimensões nanométricas. Verifica-se ainda a tendência para a formação de aglomerados, especialmente na Figura 34-(a).

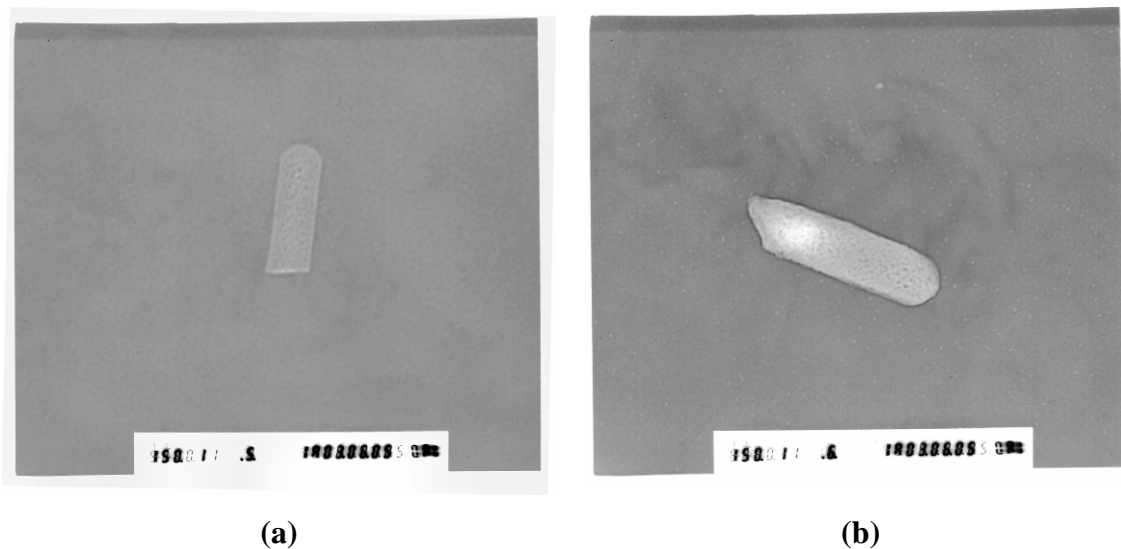


Figura 35: Micrografia de TEM da amostra E95: (a) e (b) Fragmentos de cristais de HA com uma ampliação de 150 000x.

A Figura 35 mostra as micrografias obtidas para a amostra E95. A partir das micrografias Figura 35-(a) e Figura 35-(b), verifica-se que o hábito dos cristais continua a assumir a forma de agulhas de dimensões nanométricas com o aumento da razão Ca/P.

Em conclusão, a observação das micrografias de TEM relativamente às amostras seleccionadas para o efeito (A95, D95 e E95), permitiu verificar que em termos morfológicos, os cristais de HA, possuem regra geral, uma elevada razão de aspecto aparentemente superior àquela determinada a partir da razão entre os parâmetros de rede (Tabela 9), o que pode ter a ver com o carácter aleatório das amostras de pó durante os ensaios de DRX, ou com a possibilidade de as microestruturas observadas não serem assim tão estatisticamente representativas de toda a amostra. Verificou-se ainda uma grande tendência para a formação de aglomerados de cristais (efeito que se pode identificar claramente nas micrografias A95 e D95, respectivamente Figura 35 a e b). Convém referir que nas condições de precipitação, a concentração iónica é muito elevada, contribuindo para uma diminuição das forças electrostáticas entre as partículas, podendo estas formarem aglomerados por acção das forças de van der Waals. Nestas condições, a deposição de material durante as reacções lentas de dissolução-reprecipitação que têm lugar durante o envelhecimento dá-se preferencialmente nos colos entre as partículas, reforçando as suas forças de ligação e originando assim a formação de aglomerados fortes. Esta tendência para a aglomeração foi também verificada e estudada por outros investigadores [99,100,101].

3.4 Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM)

Nas figuras seguintes apresentam-se algumas micrografias de SEM de algumas das amostras em estudo. A Figura 36 (a) corresponde à amostra A90 enquanto a Figura 36 (b) diz respeito à amostra A95. Para estas amostras, a razão Ca/P é de 1,67. Verifica-se que houve uma acentuada evolução em termos morfológicos entre a amostra A90 acabada de precipitar (0 horas) e a amostra agitada/envelhecida durante 5 horas. Na primeira, os cristais de HA identificados por DRX e confirmadas por outras técnicas espectroscópicas,

encontram-se fortemente ligados, enquanto na segunda se verifica a existência de cristais mais bem definidos. Porém, estes cristais continuam a apresentar-se tendem na forma de aglomerados.

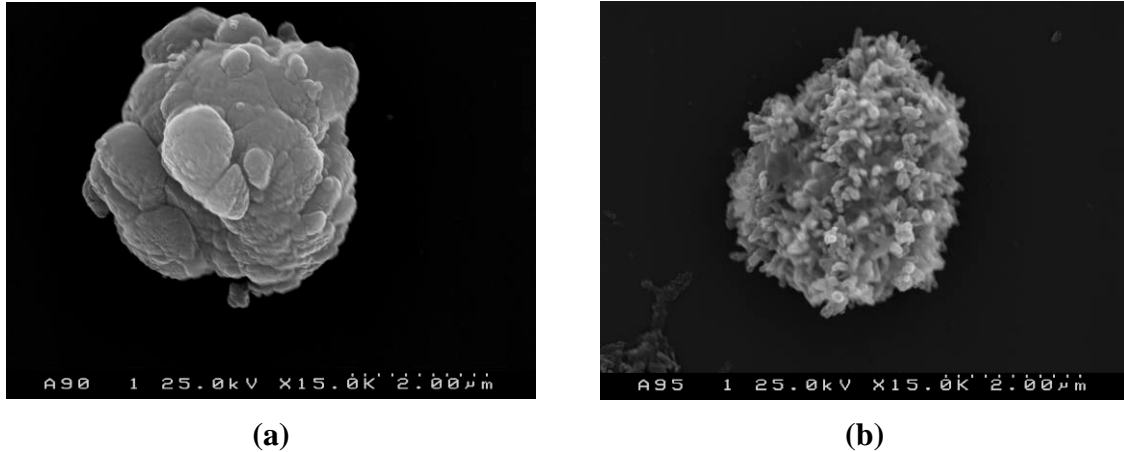


Figura 36: Micrografias SEM para as amostras A90 e A95. (a) Amostra A90 com ampliação de 15 000x. (b) Amostra A95 com ampliação de 15 000x.

A Figura 37 (a) e a Figura 37 (b) mostram as micrografias das amostras B90 e B93, respectivamente, cuja razão Ca/P é 1,68. Pode verifica-se que em termos morfológicos os precipitados são constituídos por agregados de partículas em forma de agulha.

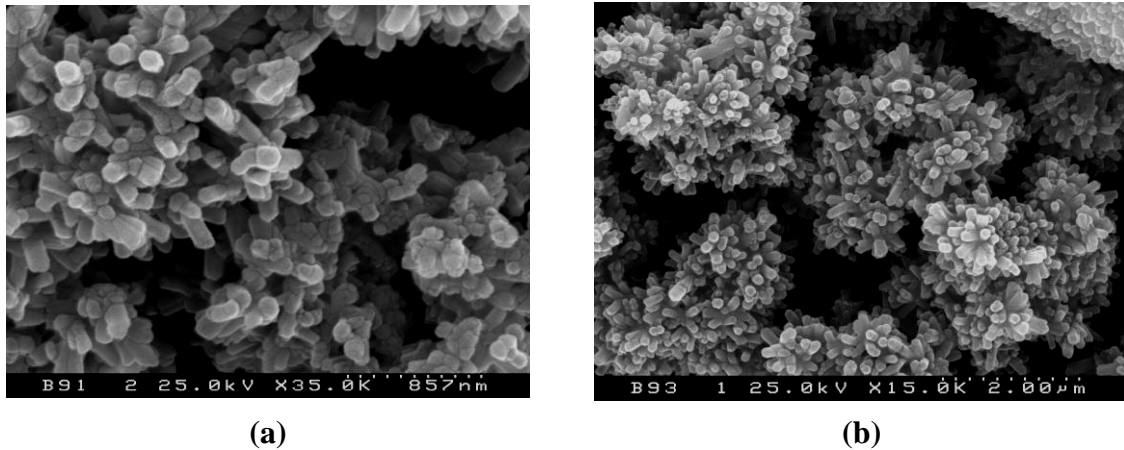


Figura 37: Micrografias SEM para as amostras B91 e B93. (a) Amostra B91 com ampliação de 35 000x. (b) Amostra B93 com ampliação de 15 000x.

A comparação destas duas micrografias também revelou diferenças em termos morfológicos, sendo que as partículas observadas na micrografia da amostra B93 (Figura 37-(b)) encontram-se mais bem desenvolvidas quando comparadas com as da micrografia

correspondente à amostra B91 (Figura 37-(a)) – ter em conta que a ampliação utilizada em B91 (de 35 000x) foi muito maior que a utilizada em B93 (de 15 000x).

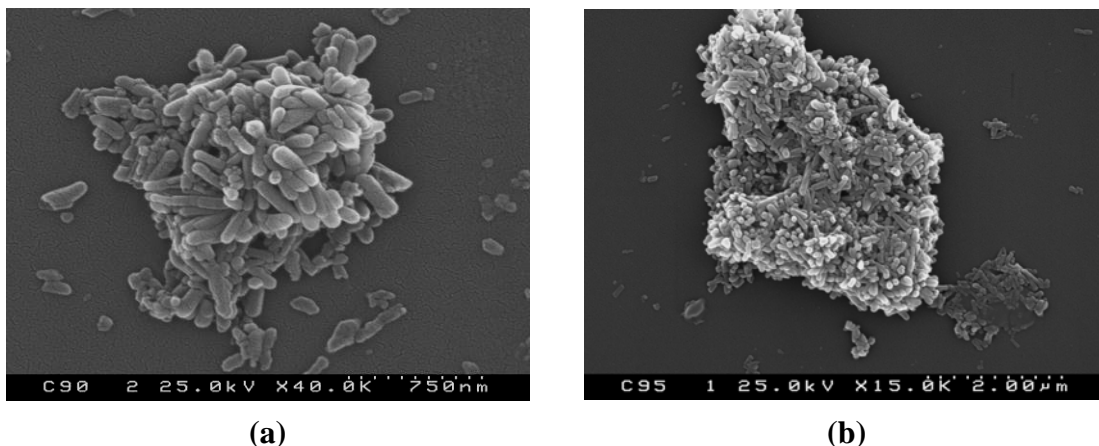


Figura 38: Micrografias SEM das amostras C90 e C95. Amostra C90 (a) com ampliação de 40 000x e amostra C95 com uma ampliação de 15 000x.

A Figura 38 (a) e a Figura 38 (b) mostram as micrografias das amostras C90 e C95, respectivamente, cuja razão Ca/P é 1,69. Mais uma vez se observa que em ambos os casos as partículas possuem forma de agulha e formam agregados, verificando-se um refinamento da estrutura cristalina com o aumento do tempo de agitação/envelhecimento, à semelhança dos casos anteriores.

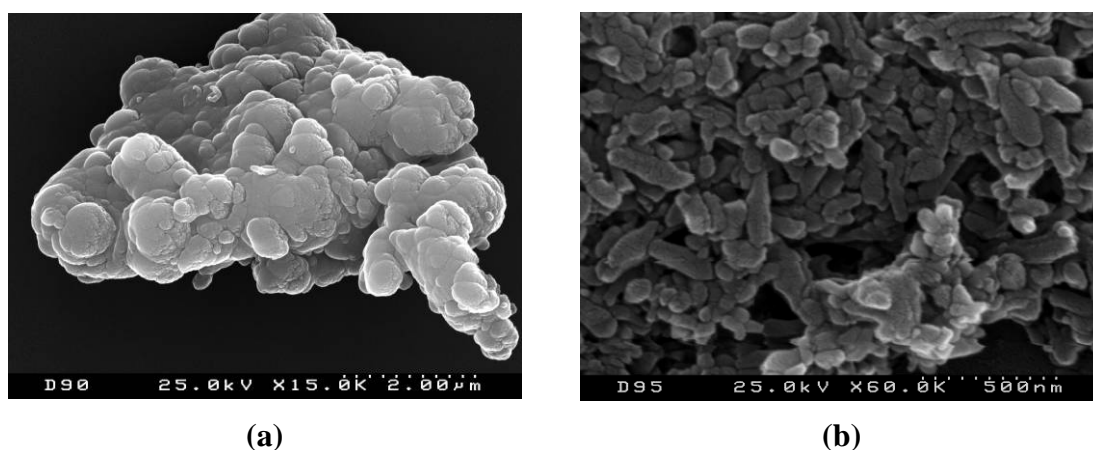


Figura 39: Micrografias SEM para as amostras D90 e D95. (a) Amostra D90 com ampliação de 15 000x. (b) Amostra D95 com ampliação de 60 000x.

A Figura 39 (a) e a Figura 39 (b) mostram as micrografias das amostras D90 e D95, respectivamente, cuja razão Ca/P é 1,70. Também para estas amostras verifica-se uma

acentuada evolução em termos morfológicos com o aumento do tempo de agitação/envelhecimento.

Assim, para $t=0$ horas (D90) os cristais não se apresentam bem definidos em termos morfológicos, situação parecida com a observada para a razão $\text{Ca/P}=1,67$. Por outro lado, ao fim de 5 horas (D95) podemos constatar a presença de cristais mais bem definidos do que em D90. Contudo, a sua forma é menos regular do que a observada nos casos anteriores. Estas diferenças de morfologia entre amostras com razões Ca/P diferentes parecem reflectir um aumento da desorganização estrutural com o aumento exagerado do excesso de cálcio, suportando a interpretação que foi feita aquando da discussão dos resultados de DRX. A tendência para se formarem aglomerados de cristais é também bem evidente nestas amostras, como seria de esperar.

A Figura 40 (a) e a Figura 40 (b) mostram as micrografias das amostras E90 e E95, respectivamente, cuja razão Ca/P é 1,80. O hábito alongado dos cristais continua bem patente em ambas as amostras E90 e E95. Verifica-se que os cristais da amostra E95 se encontram aparentemente mais desaglomerados do que em E90. Esta diferença aparente no grau de aglomeração poderá ter sido devida a diferentes durações do tempo de agitação das amostras em ultra sons antes da análise microscópica.

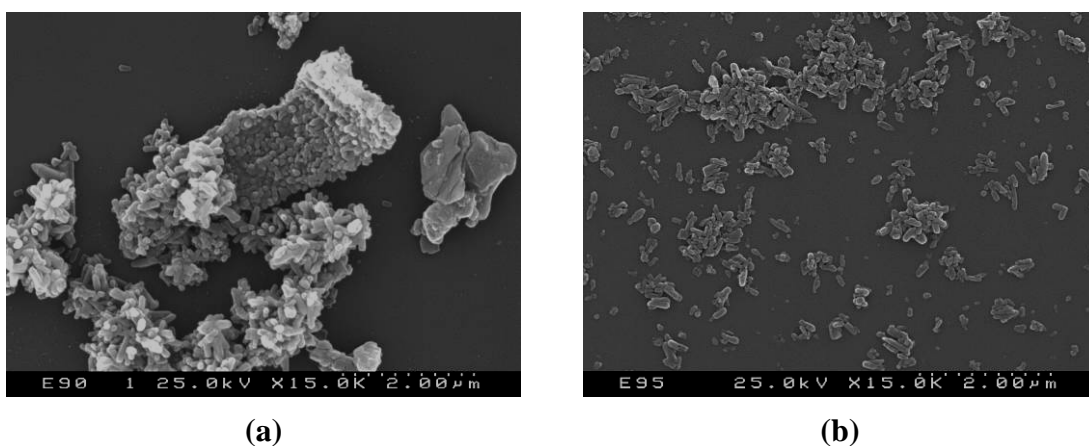


Figura 40: Micrografias SEM das amostras E90 e E95. (a) Amostra E90 com ampliação de 15 000x. (b) Amostra E95 com ampliação de 15 000x.

Em conclusão, pode dizer-se que de um modo geral, as partículas assumem um hábito tipicamente acicular independentemente da razão Ca/P da mistura dos precursores. Pode

ainda afirmar-se que, genericamente, o tempo de maturação dos precipitados promove o crescimento e refinamento dos cristais do ponto de vista morfológico [99,102,103].

3.5 Caracterização dos pós de HA precipitados na presença de um agente superficialmente activo

Como referido na parte experimental, o objectivo desta parte do trabalho foi o de avaliar a possibilidade de a precipitação de pós de HA e da sua estabilização *in situ* através da adição de um agente superficialmente activo com vista a promover a repulsão entre as partículas formadas ou, pelo menos, diminuir a sua forte tendência para formar aglomerados duros.

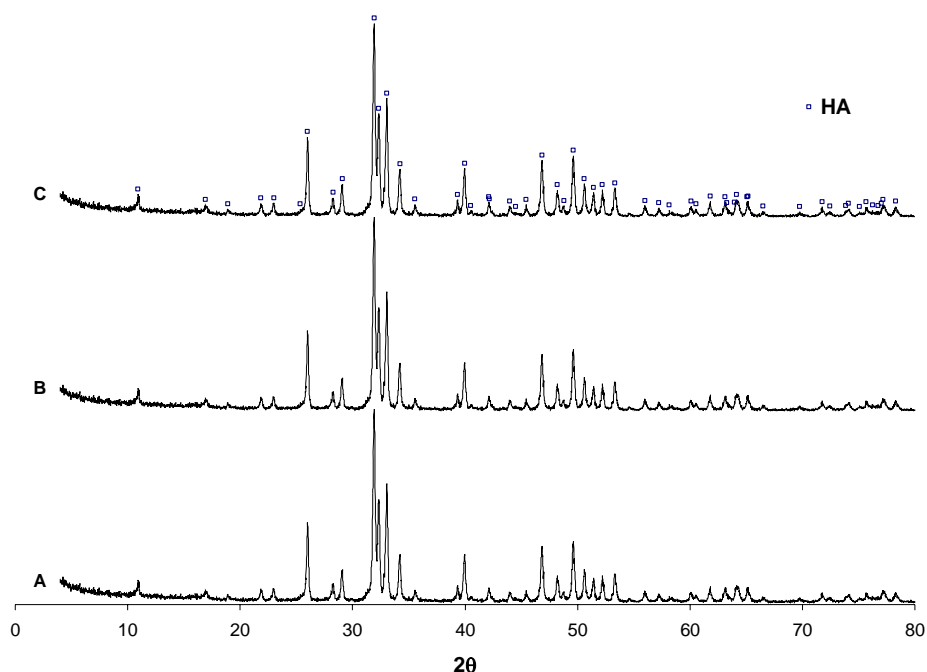


Figura 41: Padrões de difracção de Raio-X das amostras A, B e C.

A Figura 41 apresenta os resultados do DRX para as amostras A, B, e C (Tabela 6). Verifica-se que o aumento de quatro vezes da concentração da solução inicial da amostra A

para a B, e a adição de 0,5% em peso de ASA ao sistema B para obter a amostra C não causaram variações notórias nas fases cristalinas formadas, sendo a HA pura (*JPCDS 09-423 card*) a única fase presente [104].

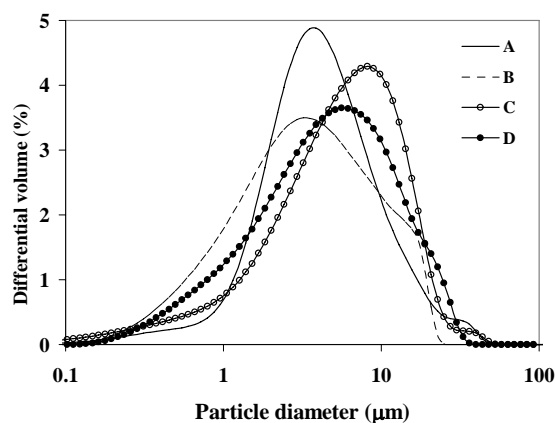


Figura 42: Distribuições do tamanho de partículas das amostras A, B, C e D, após filtração.

A Figura 42 mostra as distribuições dos tamanhos de partícula das amostras A, B, C e D (Tabela 6) medidas após filtração. É possível observar que os tamanhos médios aparentes (D_{50}) são de respectivamente 6; 5; 7,5 e 7 μm . Estes valores não correspondem ao tamanho primário das partículas, como se verifica nas fotografias de SEM (Figura 43), correspondendo sim, ao tamanho dos aglomerados.

Estes aglomerados são esperados já que se formam em condições de força iónica elevada. De facto, as partículas primárias parecem ser menores na presença de ASA. O que explica a sua maior propensão para formar aglomerados, já que as forças superficiais aumentam à medida que o tamanho de partícula diminui.

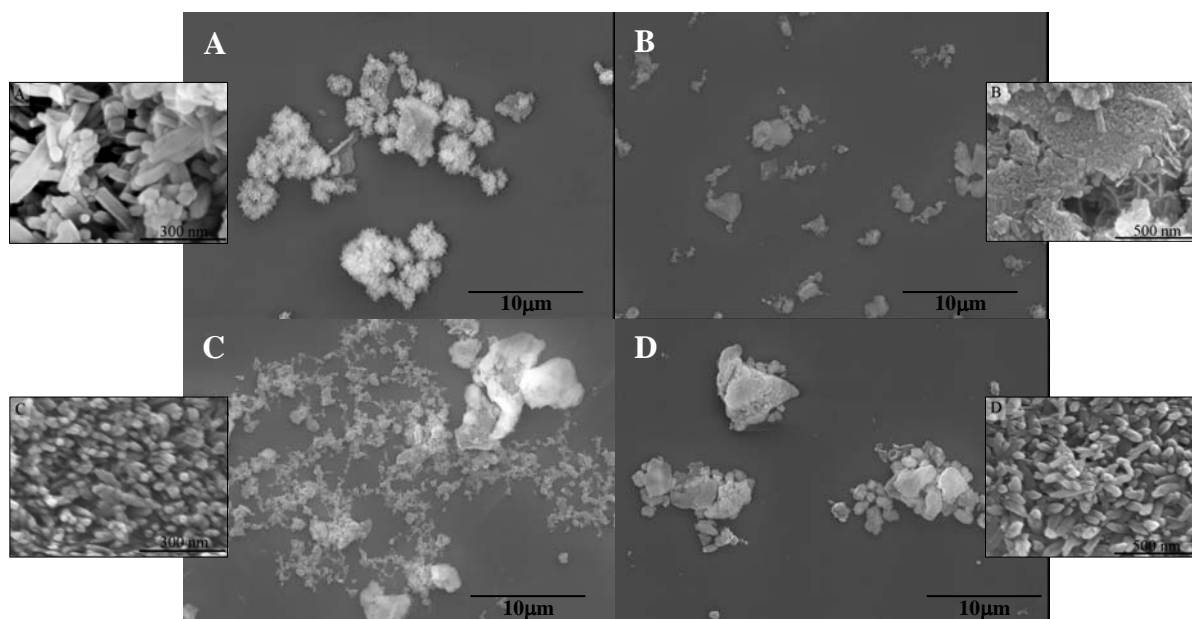


Figura 43: Microgramas SEM das amostras A, B, C e D.

Presume-se que o agente superficialmente activo seja adsorvido à superfície das partículas. Contudo, o poder de dispersão será condicionado pelo elevado valor de força iónica existente no meio de precipitação. A lavagem com água durante a precipitação dos pós permite remover a maior parte das espécies iónicas e melhorar as suas características de dispersibilidade. Deste modo, a viscosidade das suspensões diminui à medida que se aumenta a quantidade de ASA, tal como é possível observar nas curvas de C_A e D_A na Figura 44.

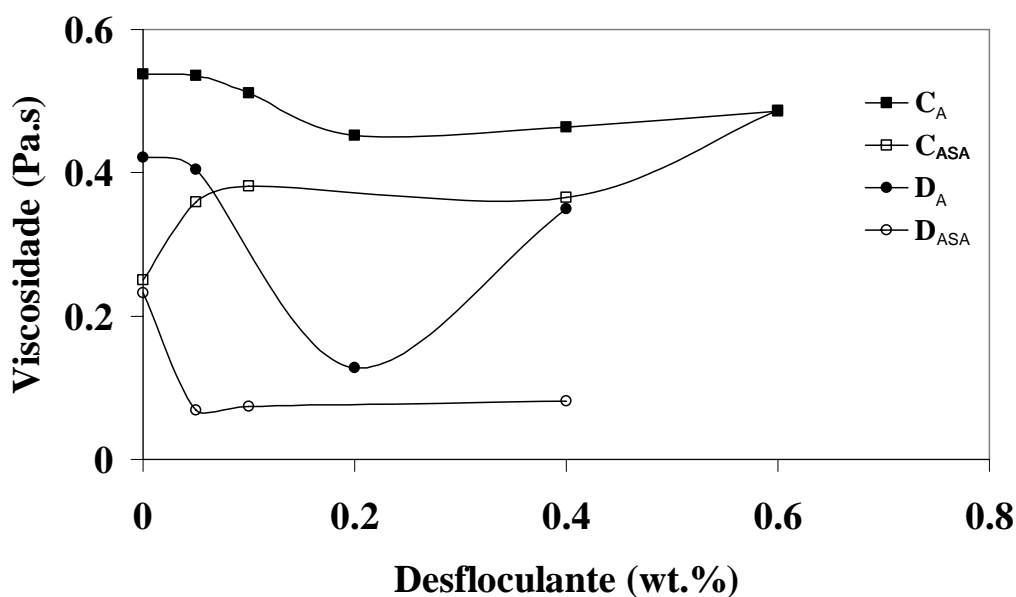


Figura 44: Curvas de desfloculação das amostras C e D, com diferentes tipos de lavagem, com água e com soluções de ASA.

No caso de pós precipitados na presença de ASA e lavados com uma solução de ASA de concentração idêntica, os efeitos parecem ser diferentes dependendo da quantidade presente durante a precipitação. Os pós precipitados na presença de 0,5 wt. % de ASA (amostra C) parecem formar aglomerados relativamente fortes dada a insuficiência de agente superficialmente activo para recobrir toda a área das partículas. Nestas condições, os contactos interpartículas não são facilmente acessíveis à solução de lavagem do agente superficialmente activo, pelo que um acréscimo de ASA tende a aumentar a viscosidade da suspensão. Uma situação oposta observa-se na presença de 2,0 wt. % de ASA (amostra D), reveladora de uma desfloculação mais efectiva dos precipitados.

4 Conclusão.

Os resultados apresentados e discutidos ao longo deste trabalho permitem retirar as seguintes conclusões acerca da influência das variáveis do processo nas características dos pós obtidos por precipitação:

1. Razão estequiométrica Ca/P tende a formar a HA pura desde que o tempo de maturação do precipitado seja suficientemente longo para uniformizar a concentração de espécies no sistema. Assim os pós não envelhecidos podem dar origem à formação de vestígios ou traços de β -TCP. Para razões Ca/P superiores à estequiométrica obtém-se sempre HA pura como única fase à excepção da razão Ca/P=1,80 e para $t=0$, o que também aponta para um menor grau de homogeneidade comparado com a obtida ao fim dos diferentes tempos de maturação. Estes resultados significam que é possível criar condições experimentais adequadas à obtenção de HA pura sem recorrer a um processo de maturação.
2. O aumento do tempo de envelhecimento (ou de maturação) conduz a um refinamento da estrutura cristalina, nomeadamente a uma maior anisotropia, isto é, verifica-se um aumento da razão de aspecto, sendo o crescimento favorecido ao longo do eixo c. A anisotropia é ainda favorecida na presença de excessos de cálcio moderados mas tende a diminuir com incrementos sucessivos deste elemento.
3. Dentro da gama de temperatura utilizada não foi possível concluir de forma inequívoca acerca do seu efeito nas características do precipitado.
4. A lavagem dos precipitados com água destilada é contraproducente, devido ao facto de promover a dissolução parcial dos pós e afectar quer a cristalinidade quer a morfologia das partículas podendo, eventualmente, ter contribuído para de algum modo mascarar o efeito de outras variáveis como a temperatura.
5. O aumento da concentração dos reagentes permite aumentar as quantidades de pó produzidas sem afectar significativamente as suas características.
6. Os precipitados tendem a formar aglomerados fortes devido à elevada concentração iónica do meio. A adição de uma quantidade adequada de um agente superficialmente activo permite reduzir o grau de aglomeração das partículas e a

sua estabilização parcial *in situ* de modo a redispersar facilmente as suspensões com soluções do agente superficialmente activo. Esta possibilidade abre perspectivas interessantes para a preparação de nanopartículas bem dispersas e para o seu processamento por via coloidal, evitando assim as etapas de secagem e calcinação que promovem a formação de agregados duros.

5 Trabalho futuro.

Como trabalho futuro seria interessante definir e desenvolver um modelo para o processo de síntese em estudo, tendo em vista e como principal objectivo a maximização em termos de controlo do processo. Seria ainda interessante desenvolver um software que permitisse controlar o processo de síntese automaticamente.

Seria ainda interessante procurar desenvolver novas áreas de aplicação da hidroxiapatite, como seja, a sua possível utilização como meio de transporte e entrega de fármacos, e neste caso, desenvolver modelos genéricos para os mecanismos que controlam estes mesmos fenómenos, permitindo um melhor conhecimento dos mesmos e um maior controlo na situação de a HA vir a ser utilizada neste tipo de aplicações.

6 Referências Bibliográficas

- [1] Ravaglioli A., Krajewski A. 1991. Bioceramics: materials, properties, applications. London, New York. Chapman & Hall. 1-14 pg.
 - [2] Gluck. 1880. History of biomaterials: applications. <http://www.sirim.my/amrec/biomat>
 - [3] Gomez P.F., Morcuende J.A. 2003. The Classic: The Surgery of the Osteo-Arthritic Hip. Philip Wiles. USA. 25:25-29 pg.
 - [4] Julien R.E, Williams B.A. 2005. Regional Anesthesia for Ambulatory Surgery, 43(3):167-175 pg.
 - [5] Oktar, F.N. 1999. PhD Thesis. Bogaziçi University, Turkey.
 - [6] Hench L.L. 1990. Handbook of Bioactive Ceramics. CRC Press, 7-23 pg.
 - [7] Hench L.L. 1991. *J Amer Ceram Soc*, 74(7):1487-510 pg.
 - [8] Kanazawa T. 1989. Inorganic phosphate materials. Kodansha & Elsevier Press. Tokyo. 15-52 pg.
 - [9] Onumaa K., Yamagishib K., Oyane A. 2005. *J Crystal Growth*, 282:199-207 pg.
 - [10] Offenbacher S., Jared H.L., O'Reilly P.G., Wells S.R., Salvi G.E., Lawrence H.P., Socransky S.S., Beck J.D. 1998. *Ann Periodontol*, 3:233 pg.
 - [11] Beck J.D., Offenbacher S., Williams R., Gibbs P., Garcia R. 1998. *Ann. Periodontol*, 3:127 pg.
 - [12] Seymour R.A., Preshaw P.M., Thomason J.M., Ellis J.S., Steele J.G. 2002. *J. Clin. Periodontol*, 30:279 pg.
 - [13] Grossi S.G., Genco R.J. 1998. *Ann Periodontol*, 3:51 pg.
-

- [14] Gross U.M., Müller-Mai C. 1990. Handbook of Bioactive Ceramics. CRC Press, USA. 25-36 pg.
- [15] Kidd E.A.M., Joyston-Bechal S., Beighton D. 1993. *Caries Res*, 27 pg.
- [16] Raskin A., Michotte-Theall B., Vreven J., Wilson N.H.F. 1999. *J Dent*, 27:13 pg
- [17] Wilson N.H.F., Mjor I.A. 2000. *J Dent*, 28:15 pg.
- [18] Yamagishi K., Onuma K., Suzuki T., Okada F., Tagami J., Otsuki M., Senawangse P. 2005. *Nature*, 433:819 pg.
- [19] LeGeros R. Z. 1991. Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine. Howard M. Myers, San Francisco, California, USA, 15:1-45 pg.
- [20] Elliott, J.C. 1994. Studies in Inorganic Chemistry. Elsevier, Amsterdam, 18:111-124 pg.
- [21] Cahn R.W., Haasen P., Kramer E.J. 1991. Materials Science and Technology. John Wiley and Sons, USA, Vol. 14.
- [22] Rodríguez L.L.M. 1999. Memoria para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas. Dep. de Química Inorgánica, Universidad Complutense de Madrid, Spain.
- [23] Suetsugu Y., Tanaka J. 2002. *J Mater Sci Mater Med*, 13: 767-772 pg.
- [24] Mathai M., Shozo T. 2001. *J Res Natl Inst Stand Technol*, 10:1035–1044 pg.
- [25] Terra J., Jiang M., Ellis D.E. 2002. *Philosophical Magazine*, 82(11):2357-2377.
- [26] Calderý L., Stott M.J., Rubio A. 2003. *Physical Review B* 67:134106: 1-7 pg.
- [27] Rejda B.V., Peelen J.G.J., Groot K. De. 1977. *J Bioeng*, 1:93 pg.
- [28] Peelen J.G.J., Rejda B.V., Groot K. De. 1977. *Philips Tech Rev*, 37:234 pg.
-

- [29] Hench L.L. 1999. Bioceramics: Applications of Ceramic and Glass Materials in Medicine. *Materials Science Forum*, 293:37-64.pg.
- [30] With G. De, Vandijk H.J.A., Hattu N., Prijs K. 1981. *J Mater Sci*, 16:1592-1598 pg.
- [31] Lu H., Qu Z., Zhou Y. 1999). *J Mater Sci Mater Med*, 9:583-587 pg.
- [32] Gonzalez-diaz P.F., Santos M. 1978. *J Solid State Chem*, 23:265 pg.
- [33] Freund F., Knobel R. 1977. *J Chem Soc, Daiton Trans*, 11:1136 pg.
- [34] Maiti G.C., Freund F. 1981. *J Inrog Nucl Chem*, 43:2633 pg.
- [35] Simpson D.R. 1968. *Am Mineral*, 53:1953 pg.
- [36] Monma H., Tanaka J., Ueno S. 1980. *Gypsum & Lime*, 165:60 pg.
- [37] Royce B.S.H. 1973. *J. Phys. Suppi*, 34C:9-327pg.
- [38] Takahashi T., Tanase S., Yamamoto O. 1978. *Electrochim Ada*, 23:369 pg.
- [39] Kijima T., Tsutsumi M. 1979. *J Amer Ceram Soc*, 62:455 pg.
- [40] Maiti G.C., Freund F. 1981. *J Chem Soc, Dalton Trans*, 949 pg.
- [41] Yamashita K., Owada H., Nakagawa H., Umegaki T., Kanazawa T. 1986. *J Am Ceram Soc*, 69:590 pg.
- [42] Kay M.I., Young R.A., Posner A.S. 1964. *Nature*, 204:1050 pg.
- [43] Arends J., Royce B.S.H., Siegel J., Smoluchowski R. 1968. *Phys Lett*, 27A:720 pg.
- [44] Hitmi N., Chatain D., Lacabanne C., Dugas J. 1980. *Solid State Comm*, 33:1003 pg.
- [45] Komine Y., Sato K. 1983. *Fine Ceramics Report*, 1: 4 pg.
-

- [46] Chander S., Fuerstenau D.W. 1982. *Colloids and Surfaces*, 4:101 pg.
- [47] Chander S., Fuerstenau D.W. 1984. Ed. D.N. Misra, Plenum Press, New York, 29 pg.
- [48] Suzuki T., Hatsushika T., Hayakawa Y. 1981. *J Chem Soc, Faraday Trans*, 1(77): 1059 pg.
- [49] Suzuki T., Ishigaki K., Miyake M. 1984. *J Chem Soc, Faraday Trans*, 1(80):3157pg.
- [50] Shimabayashi S., Tamura C., Nakagaki M. 1981. *Chem Pharm Bull*, 29:2116 pg.
- [51] Dry M.E., Beebe R.A. 1960. *J Phys Chem*, 64:1300 pg.
- [52] Clark J.S. 1955. *Can J Chem*, 33:1696 pg.
- [53] Juriaanse A.C., Arends J., Ten Bosch J.J. 1980. *J Colloid Interface Sci*, 76:220 pg.
- [54] Kresak M., Moreno E.C., Zahradnik R.T., Hay D.I. 1977. *J Colloid Interface Sci*, 59:283 pg.
- [55] Monma H. 1982. *J Catal*, 75:200 pg.
- [56] Bett J.A.S., Christner L.G., Hall W.K. 1967. *J Amer Chem Soc*, 89:5535 pg.
- [57] Misono M., Hall W.K. 1973. *J Phys Chem*, 77:791 pg.
- [58] Reichle W.T. 1970. *J Catal*, 17:297pg.
- [59] Joris S.J., Amberg C.H. 1971. *J Phys Chem*, 75:3167 pg.
- [60] Monma H. 1985. *Catalysis*, 27:237 pg.
- [61] Kawasaki T., Kobayashi W., Ikeda K., Takahashi S., Monma H. 1986. *Fur J Biochem*, 157:291 pg.
- [62] Gorbunoff M.J. 1984. *Anal Biochem*, 136:425 pg.
-

- [63] Gorbunoff M.J. 1984. *Anal Biochem*, 136:433 pg.
- [64] Ganguli D., Chatterjee M. 1997. *Ceramic Powder Preparation: A Handbook*. Klumer Academic Publishers, USA.
- [65] Ferreira J. M. F. 1986. Tese para obtenção de o grau de Doutor, Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro, Universidade de Aveiro, Portugal.
- [66] Gibson I.R., Rehman I., Best S. M., Bonfield W. 2000. *J Mater Sci Mater Med*, 12:799-805 pg.
- [67] Kannan S., Lemos I.A.F., Rocha J.H.G., Ferreira J.M.F. 2005. *J Solid State Chem*, 178:3190-3196 pg.
- [68] Gibson I. R., Best S. M., Bonfield W. 1999. Chemical characterization of silicon-substituted hydroxyapatite. *J Biomed Mater Res*, 44:422-428 pg.
- [69] Raynaud S., Champion E., Bernache-Assollant D., Thomas P. 2002. *Biomaterials* 23:1065-1072 pg.
- [70] Lazic S., Zec S., Miljevi N., Milonji S. 2001. *Thermochim Acta*, 374:13-22 pg.
- [71] Cheng Z.H., Yasukawa A., Kandori K., Ishikawa T. 1998. *J Chem Soc Faraday Trans*, 94(10):1501-1505 pg.
- [72] Osaka A., Miura Y., Takeuchi K., Asada M., Takahashi K. 1991. *J Mater Sci Mater Med*, 2:51-55 pg.
- [73] Lazic S., Zec S., Miljevi N., Milonji S. 2001. *Thermochim Acta*, 374:13-22 pg.
- [74] Cheng Z.H., Yasukawa A., Kandori K., Ishikawa T. 1998. *J Chem Soc Faraday Trans*, 94(10):1501-1505 pg.
- [75] Osaka A., Miura Y., Takeuchi K., Asada M., Takahashi K. 1991. *J Mater Sci Mater Med*, 2:51-55 pg.
-

- [76] Ishikawa K., Ducheyne P., Radin S. 1993. *J Mater Sci Mater Med*, 4:165–168 pg.
- [77] Lazic S., Zec S., Miljevi N., Milonji S. 2001. *Thermochim Acta*, 374:13-22 pg.
- [78] Cheng Z.H., Yasukawa A., Kandori K., Ishikawa T. 1998. *J Chem Soc Faraday Trans*, 94(10):1501-1505 pg.
- [79] Osaka A., Miura Y., Takeuchi K., Asada M., Takahashi K. 1991. *J Mater Sci Mater Med*, 2:51-55 pg.
- [80] Orlovskii V.P., Ezhova Z.A., Rodicheva G.V. 1990. *Zh Neorg Khim*, 34:1337-1345 pg.
- [81] Doremus R.H. 1992. *J Mater Sci*, 27 (1992) 285–296 pg.
- [82] Liu D.M., Chou H.M., Wu J.D. 1994. *J Mater Sci Mater M*. 5:147-153 pg.
- [83] Ellies L.G., Nelson D.G.A., Featherstone J.D.B. 1992. *Biomaterials* 13:313-316 pg.
- [84] Jarcho M., Bolen C.H., Thomas M.B., Bobick J., Kay J.F., Dormus R.H. 1976. *J Mater Sci* 11:2027-2035 pg
- [85] Aoki H. 1992. *Japanese Association of Apatite Science*, Ishiyaku Euroamerica, Tokyo, Japan.
- [86] Chen C., Oakes C.S., Byrappa K., Riman R.E., Brown K., Ten Heuizen K.S., Janas V.F. 2004. *J Mater Chem*, 14:2425-2432 pg.
- [87] Iqbal Z., Tomaselli V.P., Fahrenfeld O., Möller K.D., Ruzala F.A., Kostiner E. 1977. *J Phys Chem Solids* 38:923 pg.
- [88] Aza P.N. de, Guitián F., Santos C., Aza S. de, Cusco R., Artus L. 1997. *Chem Mater*, 9:916 – 922.
- [89] Blakeslee K.C., Condrate R.A. Sr. 1971. *J Amer Ceram Soc*, 54(11):559-563 pg.
-

- [90] OShea D.C., Bartlett M.L., Young R.A. 1974. *Archs Oral Biol*, 19:995-1006 pg.
- [91] Nelson D.G.A., Williamson B.E. 1982. *Austral J Chem* 35:715-727 pg.
- [92] Fowler B.O. 1974. *Inorg Chem* 13:194-207 pg.
- [93] Fowler B.O. 1977. *J Dent Res*, 56: Abstract No. 68.
- [94] Markovic M., Fowler B.O., Tung M.S. 2004. *J Res Natl Inst Stand Technol* 109:553-568 pg.
- [95] Klug H.P., Alexander L.E. 1959. X-ray Diffraction Procedures. Wiley, New York.
- [96] Cullity B.D. 1978. Elements of X ray Diffraction. Addison Wesley. Reading MA.
- [97] Danilchenko S.N., Kukharenoi O.G., Moseke C., Protsenko I.Y., Sukhodubi L.F., Sulkio-cleff B. 2002. *Cryst Res Technol* 37:1234–1240 pg.
- [98] Kinney J.H., Pople J.A., Marshall G.W., Marshall S.J. 2001. *Calcif Tissue Int*, 69:31–37 pg.
- [99] Rodríguez-Clemente R., López-Macipe A., Gómez-Morales J., Torrent-Burgués J., Castaño V.M. 1998. *Journal of the European Ceramic Society*, 18(9):1351-1356 pg.
- [100] Lazic S. 1995. *Journal of Crystal Growth*, 147:147-154 pg
- [101] Torrent-Burgues J., Rodríguez-Clemente R.. 2001. *Cryst. Res. Technol.* 36(8-10): 1075-1080 pg.
- [102] Saeri M.R., Afshar A., Ghorbani M., Ehsani N., Sorrell C.C. (2003). *Materials Letters*, 57:4064-4069 pg.
- [103] López-Macipe A., Rodríguez-Clemente R., Hidalgo-López A., Arita I., Garcia-Garduño M.V., Rivera E., Castaño V.M. 1998. *Journal of Materials Synthesis and Processing*, 6(1):21-26 pg.
-

- [104] Lemos A.F., Rebelo A.H. S, Rocha J.H. G, Ferreira J.M.F. 2005. *Key Engineering Materials*, 284-286:67-70 pg.
-